

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO  
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA

**RAFAELLA EDUARDA VOLPI**

**Participação da via da STAT3 em neurônios POMC do  
hipotálamo na homeostase energética**

Ribeirão Preto

2020

RAFAELLA EDUARDA VOLPI

**Participação da via da STAT3 em neurônios POMC do hipotálamo na  
homeostase energética**

**Versão original**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Fisiologia

Orientadora: Profa. Dra. Lucila Leico Kagohara Elias

Ribeirão Preto

2020

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

### **FICHA CATALOGRÁFICA**

Volpi, Rafaella Eduarda

Participação da via da STAT3 em neurônios POMC do hipotálamo na homeostase energética, 2020.

152 p. : il. ; 30 cm

Dissertação (Mestrado em Fisiologia) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia.

Orientação: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Lucila Leico Kagohara Elias

1. Homeostase energética. 2. STAT3. 3. Leptina. 4. CNTF. 5. Núcleo arqueado. 6. Neurônios POMC.

Nome: Rafaella Eduarda Volpi

Título: Participação da via da STAT3 em neurônios POMC do hipotálamo na homeostase energética

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr.: \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr.: \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr.: \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Este trabalho foi realizado com apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (Capes/MEC, 1732205) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, 130288/2018-7).

## **DEDICATÓRIA**

*Aos meus pais, Adriana Aparecida Apolari Volpi e Edson Luiz Volpi, que sempre desejaram o meu melhor, que me guiaram e me incentivaram. Á eles, que me proporcionaram as oportunidades que me trouxeram aqui. A vocês, que são exemplo e motivo de orgulho, todo meu amor, carinho e admiração.*

## **AGRADECIMENTOS**

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lucila Leico Kagohara pela oportunidade, confiança, esforço, conselho, incentivo, e orientação proporcionada durante o desenvolvimento da dissertação.

Ao Prof. Dr. José Antunes Rodrigues, por seu entusiasmo e dedicação para com seu trabalho e todo o Laboratório de Neuroendocrinologia.

À Maria Valci e à Milene por todo apoio técnico, ensinamentos, conselhos e amizade.

Aos colegas do Laboratório de Neuroendocrinologia, pela convivência e companheirismo que tornaram o dia a dia mais agradável. Em especial à Aline Isabelle Rodrigues, Gabriel Gonçalves, Gabriel Ishioka, Hellen Veida, Luciana Parreiras, Rafael Appel, Raoni dos Santos e Sabrina Tristão. Obrigada por todo o companheirismo, paciência, conselhos e ensinamentos.

Aos colegas que já saíram do laboratório, mas que também contribuíram para o meu desenvolvimento pessoal e profissional: Beatriz Borges, Gislaine Almeida, Juliana Bezerra, Leonardo Araújo, Lucas Kniess, Ricardo Coletti e Rodrigo Rorato.

Aos amigos do Laboratório de Neurofisiologia e Neuroetologia Experimental (LNNE), principalmente à Adrieli Oliveira e ao Samuel Grisote por todo apoio mútuo, conselhos e incentivo durante os estudos e execução do projeto.

Aos demais colegas do Departamento de Fisiologia da FMRP, pelas conversas animadas e por transformarem o ambiente mais agradável.

Aos docentes do Departamento de Fisiologia da FMRP por todos os ensinamentos e conselhos.

Aos funcionários do Departamento de Fisiologia e da FMRP, pelo bom humor, disposição e prestatividade, em especial ao Rubens Fernando de Melo e Marina Holanda.

Aos funcionários da secretaria do Departamento de Fisiologia da FMRP, por toda atenção, bom humor, educação e prestatividade.

Aos bioteristas do Departamento de Clínica Médica da FMRP, Carlos, Maurício e Roni pela ajuda com a manutenção e cuidado dos animais.

Aos animais, pelo sacrifício.

Aos membros da banca examinadora, pela disponibilidade, contribuição e interesse para a conclusão deste trabalho.

Às minhas amigas - Marina, Bárbara, Gabriela, Layara, Lívia, Cíntia, Lais, Susie e Ana Paula - por todo apoio, incentivo e paciência.

À minha família pelo apoio, compreensão e incentivo durante toda a jornada.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

À Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), por toda a infraestrutura disponível para a execução deste trabalho.



*“Não há transição que não implique em um ponto de partida, um processo e um ponto de chegada. Todo amanhã se cria num ontem, através de um hoje. De modo que o nosso futuro baseia-se no passado e se corporifica no presente. Temos de saber o que fomos e o que somos, para sabermos o que seremos.”*

**(Paulo Freire, 1979, p.18)**

VOLPI, R. E. **Participação da via da STAT3 em neurônios POMC do hipotálamo na homeostase energética.** 2020, 152f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2020.

## RESUMO

O comportamento ingestivo é coordenado por sinais centrais e periféricos integrados no hipotálamo. O núcleo arqueado (ARC) participa da integração dos sinais metabólicos e humorais e é composto por uma população de neurônios que expressam neuropeptídeos orexígenos, NPY (neuropeptídeo Y) e AgRP (proteína relacionada à agouti) e outra que expressa neuropeptídeos anorexígenos, POMC (proopiomelanocortina) e CART (transcrito regulado por cocaína e anfetamina), os quais são inibidos e estimulados, respectivamente, pela leptina. Ao se ligar ao seu receptor LepRb, a leptina ativa a via JAK2 (proteína janus quinase 2)/STAT3 (proteína transdutora de sinal e ativadora de transcrição 3). STAT3 também é ativado por outros fatores, como o fator neurotrófico ciliar (CNTF), que contribui para a diminuição do peso corporal e hipofagia, inclusive em camundongos com obesidade induzida por dieta (DIO), que são resistentes ao tratamento com leptina. Dessa forma, o presente trabalho visa investigar a importância da sinalização mediada por STAT3 em neurônios POMC do ARC na homeostase energética, assim como a participação desta via nos efeitos hipofágicos promovidos pelo CNTF. Para tanto, a metodologia Cre-lox foi utilizada para a geração de camundongos com deleção específica de STAT3 em neurônios POMC, o que nos permitiu gerar camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> (experimentais), e STAT3<sup>Fl/Fl</sup> (controles). Foram avaliados peso corporal, ingestão alimentar, metabolismo glicêmico, concentrações séricas de insulina e leptina em animais experimentais e controles de ambos os sexos, tratados com dieta regular (RD) ou hiperlipídica (HFD). O peso corporal e a ingestão alimentar de camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup> machos, tratados com RD, também foram avaliados após receberem três doses de CNTF (0,1 µg/g) ou salina (200-250 µL) intraperitonealmente. Observamos que a via da STAT3 em neurônios POMC está envolvida na manutenção do peso corporal de machos e fêmeas alimentados com RD e em fêmeas que receberam HFD. A ingestão alimentar das fêmeas POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> que receberam RD ou HFD foi maior em relação ao respectivo grupo controle (STAT3<sup>Fl/Fl</sup>). Além disso, observamos que a deleção de STAT3 em neurônios POMC diminui a tolerância à glicose de fêmeas alimentadas com RD e induz maiores concentrações sérias de insulina em fêmeas

alimentadas com HFD. Observamos também que a HFD contribuiu para o aumento da concentração sérica de insulina e leptina de machos e fêmeas de ambos os genótipos, do peso do tecido adiposo retroperitoneal (TABr) e do fígado em relação aos tratados com RD. Em relação ao TABr, observamos também que machos e fêmeas POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>Fl/Fl</sup> apresentaram maior peso de TABr em relação aos STAT3<sup>Fl/Fl</sup>, alimentados com as duas dietas. Além do efeito da deleção de STAT3 em neurônios POMC na homeostase energética e glicêmica, demonstramos que o efeito do CNTF de diminuição do peso corporal e da ingestão alimentar independe da sinalização de STAT3 em neurônios POMC, uma vez que camundongos de ambos os genótipos apresentaram hipofagia e perda de peso corporal de maneira similar. Dessa forma, podemos concluir que a via da STAT3 em neurônios POMC contribui para a regulação da homeostase energética em situação normocalórica em machos e fêmeas, assim como nas fêmeas em resposta à HFD. Concluimos também que a via da STAT3 em neurônios POMC não participa da regulação da homeostase glicêmica em machos. No entanto, em fêmeas alimentadas com RD, houve diminuição da tolerância à glicose. Os efeitos do CNTF de diminuição do peso corporal e hipofagia independem da via da STAT3 em neurônios POMC, sugerindo que outras vias e/ou células estejam envolvidas nessas respostas.

**Palavras – chave:** Homeostase energética; STAT3; Leptina; CNTF; Núcleo arqueado; Neurônios POMC.

VOLPI, R. E. **Role of STAT3 pathway in POMC neurons of hypothalamus in the energy homeostasis.** 2020, 152f. Dissertation (Masters) – Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2020.

## ABSTRACT

Ingestive behavior is coordinated by central and peripheral signals integrated in the hypothalamus. The arcuate nucleus (ARC) is composed of a population of neurons that express orexigenic neuropeptides, NPY and AgRP, and another population that expresses anorexigenic neuropeptides, POMC and CART, which are inhibited and stimulated, respectively, by leptin. When binds to its LepRb receptor, leptin activates the JAK2/STAT3 pathway. STAT3 is also activated by other factors, such as the ciliary neurotrophic factor (CNTF), which contributes to the reduction of body weight and hypophagia, including in mice with diet-induced obesity (DIO), which are resistant to treatment with leptin. Thus, the present work aimed to investigate the role of STAT3 signaling in their ARC POMC neurons in energy homeostasis. We also investigated participation of this pathway in the hypophagic effects promoted by CNTF. To attain this purpose, the Cre-lox technology was used to generate mice with specific STAT3 deletion in POMC neurons, which allowed us to generate POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>Fl/Fl</sup> (experimental), and STAT3<sup>Fl/Fl</sup> (control) mice. Body weight, food intake, blood glucose serum insulin and leptin concentrations were assessed in experimental and control mice of both sexes, fed regular (RD) or hyperlipidic (HFD) diet. Body weight and food intake of male POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>Fl/Fl</sup> and STAT3<sup>Fl/Fl</sup> mice, treated with RD, were also evaluated after three doses of CNTF (0.1 µg / g) or saline (200-250 µL) intraperitoneally. We observed that the STAT3 pathway in POMC neurons is important for the maintenance of body weight of males fed with RD and in females treated with RD or HFD. Food intake of female POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>Fl/Fl</sup> mice that received RD or HFD was higher compared to the respective control group (STAT3<sup>Fl/Fl</sup>). In addition, we notice that STAT3 deletion in POMC neurons decreases glucose tolerance in female mice treated with RD and induces higher serum insulin concentration in female under HFD. HFD also increases serum insulin and leptin concentration of males and females of both genotypes, the weight of retroperitoneal adipose tissue (TABr) and liver in relation to those under RD. TABr content was increased in male POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>Fl/Fl</sup> under RD and female under both RD and HFD. In addition to the effect of STAT3 deletion in POMC neurons on energy and glycemetic homeostasis, we demonstrated that the CNTF effect of

decreasing body weight and food intake does not depend on STAT3 signaling in POMC neurons, since mice of both genotypes showed a similar decrease in body weight and food intake. Thus, we can conclude that the STAT3 pathway in POMC neurons contributes to the regulation of energy homeostasis in a normocaloric condition in both male and female mice, as well as in female mice under HFD. We also concluded that the STAT3 pathway in POMC neurons does not participate in the regulation of glycemic homeostasis in male mice under both diets and in female fed-HFD. However, in female under RD, glucose tolerance was decreased. The effects of CNTF in decreasing body weight and hypophagia seem not to involve STAT3 pathway in POMC neurons, suggesting that other pathways and/or cells are involved in these effects.

**Keywords:** Energy homeostasis. STAT3. Leptin. CNTF. Arcuate Nucleus. POMC Neurons.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Via de sinalização da leptina e resistência à leptina. Em um indivíduo normal, quando o receptor de leptina (LepRb) é ativado pela leptina, a proteína janus quinase 2 (JAK2) é fosforilada. JAK2 fosforilada, então, fosforila resíduos de tirosina específicos (Y985, Y1077, Y1138) na porção citosólica do LepRb. A fosforilação de Y1077 recruta a proteína transdutora de sinal e ativadora de transcrição 5 (STAT5), a fosforilação de Y985 medeia a ativação da via da MAPK e, a fosforilação de Y1138 recruta a proteína transdutora de sinal e ativadora de transcrição 3 (STAT3). A ativação de STAT3 promove a transcrição do gene *Pomc* (não representado) e de genes que inibem a sua própria sinalização, como o *Socs3* (Supressor da sinalização de citocina 3), que inibe JAK2 e também se liga ao Y985 fosforilado, bloqueando a sinalização da leptina.. Além disso, a TCPTP (fosfatase de tirosina proteica de células T) e a PTP1B (fosfatase de tirosina proteica 1B) inibem, respectivamente, STAT3 e JAK2. A leptina também ativa a via da PI3K por meio do recrutamento de substratos do receptor de insulina (IRS). Em indivíduos obesos, o conteúdo de tecido adiposo está aumentado assim como os níveis de leptina. Conseqüentemente, o aumento da sinalização por meio do LepbR promove o aumento da expressão de SOCS3, TCPTP e PTP1B e, com isso, atenua a resposta à ação da leptina (extraída de PAN & MYERS, 2018). \_\_\_\_\_ 31

**Figura 2.** Via de sinalização do CNTF. O receptor do CNTF (CNTFR) é composto por três subunidades: a subunidade específica de ligação ao CNTF (CNTFR $\alpha$ ), a glicoproteína 130kDa (gp130). Quando o CNTFR é ativado, inicia-se uma cascata de sinalização que envolve as vias JAK/STAT e Proteína quinase RAS ativada por mitógeno (ras-MAPK). O CNTF ativa as proteínas Janus Quinase (JAK) que fosforilam o resíduo 705 da STAT3 (Tyr<sub>705</sub>). STAT3 fosforilado induz a formação de um dímero de STAT3, que é translocado para o núcleo, onde promove a transcrição de diversos genes relacionados às propriedades neuroprotetoras, crescimento e migração neuronal. O CNTF também ativa e fosforila STAT1 e STAT5 (não representado). A ativação de MAPK pelo CNTF ocorre por meio do recrutamento de SHP2 (proteína tirosina fosfatase 2) e resulta na ativação de ERK1/2 e tem papel importante na sobrevivência neuronal. O CNTF também ativa a via da PI3K/AKT, importante para a captação de glicose e sobrevivência neuronal, e a via da mTOR, que medeia os efeitos do CNTF na neuroinflamação e no controle da homeostase energética.

(Adaptada de: PASQUIM ET AL., 2015; BEACH ET AL., 2017). Figura construída em: <https://biorender.com/>. \_\_\_\_\_ 35

**Figura 3.** Esquema ilustrativo da metodologia Cre-lox para geração de animais com deleção condicionada (extraída de HARNO ET AL., 2013). \_\_\_\_\_ 42

**Figura 4.** Esquema da geração de camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>Fl/Fl</sup>. Figura construída em: <https://biorender.com/>. \_\_\_\_\_ 43

**Figura 5.** Protocolo experimental 1. \_\_\_\_\_ 44

**Figura 6.** Protocolo experimental 2. \_\_\_\_\_ 45

**Figura 7.** Teste de tolerância à glicose (GTT). \_\_\_\_\_ 47

**Figura 8.** Teste de tolerância à insulina (ITT). \_\_\_\_\_ 48

**Figura 9.** Eletroforese em gel de agarose (3%) após PCR para genotipagem de POMC-cre e STAT3<sup>Fl/Fl</sup>. M: Marcador. C+: Controle positivo correspondente a uma amostra de genótipo conhecido. C-: Controle negativo água (e não material genético). ST3: STAT3. WT: Animais selvagens para POMC. À direita está identificado o tamanho do fragmento de DNA (em pares de base, bp). \_\_\_\_\_ 52

**Figura 10.** ImunoFluorescência para pSTAT3 (verde) e  $\alpha$ MSH (vermelho) em camundongos STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e Pomc-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> perfundidos 45 minutos após estímulo com leptina (i.p., 0,5mg/kg) submetidos ao jejum de 2 horas. 3V - Terceiro ventrículo;VMH – Núcleo ventromedial do hipotálamo; ARC – núcleo arqueado do hipotálamo. As setas indicam co-localização de pSTAT3 e  $\alpha$ MSH. Escalas: 100  $\mu$ m (aumento de 20x) e 50  $\mu$ m (aumento de 40x). \_\_\_\_\_ 53

**Figura 11.** Avaliação semanal do corporal de camundongos Pomc-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup> machos (n=7-8, painéis A e B) e fêmeas (n=7, painéis C e D) tratados com dieta regular (RD) ou dieta hiperlipídica (HFD) (Apêndices A-D). Valores expressos como média  $\pm$  EPM. Dados analisados pelo teste ANOVA de duas vias, seguido do pós-teste de Sidak. \* p<0,05 POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> vs STAT3<sup>Fl/Fl</sup>. \_\_\_\_\_ 55

**Figura 12.** Ingestão alimentar acumulada, em gramas (g), de camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup> machos (n=7-9, painéis A-B) e fêmeas (n=7-8, painéis C-

D) tratados com dieta regular (RD) ou hiperlipídica (HFD) (Apêndices E-H). Valores expressos como média  $\pm$  EPM. Dados analisados pelo teste ANOVA de duas vias, seguido do pós-teste de Sidak. \*  $p < 0,05$  POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> vs STAT3<sup>Fl/Fl</sup>. \_\_\_\_\_ 56

**Figura 13.** Média da taxa de eficiência alimentar (FER) de camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup> machos (n=7-9, painéis A-B) e fêmeas (n=7-8, painéis C-D) tratados com dieta regular (RD) ou hiperlipídica (HFD) (Apêndice I). Valores expressos como média  $\pm$  EPM. Dados analisados pelo teste Mann-Whitney. \*  $p < 0,05$  POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> vs STAT3<sup>Fl/Fl</sup>. \_\_\_\_\_ 57

**Figura 14.** Glicemia (mg/dL) de camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup> machos (n=7-9, painéis A-B) e fêmeas (n=7-8, painéis C-D) tratados com dieta regular (RD) ou hiperlipídica (HFD) com 9, 12 e 16 semanas de idade (Apêndice J). Valores expressos como média  $\pm$  EPM. Dados analisados pelo teste ANOVA de duas vias, seguido do pós-teste de Tukey. \*  $p < 0,05$  POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> vs STAT3<sup>Fl/Fl</sup>. \_\_\_\_\_ 58

**Figura 15.** Curva de resposta glicêmica durante o teste de tolerância à glicose (GTT) e área sobre a curva (AUC, mg/dL.min) do GTT de camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup> machos (n=7-9, painéis A-B) e fêmeas (n=7-8, painéis C-D) tratados com dieta regular (RD) com 13 semanas de idade, 12 horas de jejum e administração intraperitoneal de 0,75 g/kg de glicose (Apêndice K). Valores expressos como média  $\pm$  EPM. Dados analisados pelo teste Mann-Whitney e ANOVA de duas vias, seguida do pós-teste de Tukey. \*  $p < 0,05$  POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> vs STAT3<sup>Fl/Fl</sup>. +  $p < 0,05$  POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> vs t=0 min do mesmo genótipo. #  $p < 0,05$  STAT3<sup>Fl/Fl</sup> vs t=0 min t=0 min do mesmo genótipo. \_\_\_\_\_ 59

**Figura 16.** Curva de resposta glicêmica durante o teste de tolerância à insulina (ITT) e área sobre a curva (AUC, mg/dL.min) do ITT de camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup> machos (n=9-7, painéis A-B) e fêmeas (n=7-8, painéis C-D) tratados com dieta regular (RD) com 14 semanas de idade, 5 horas de jejum e administração intraperitoneal de 1,0 U/kg de insulina (Apêndice L). Valores expressos como média  $\pm$  EPM. Dados analisados pelo teste Mann-Whitney e ANOVA de duas vias, seguida do pós-teste de Tukey. +  $p < 0,05$  POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> vs t=0 min do mesmo genótipo. #  $p < 0,05$  STAT3<sup>Fl/Fl</sup> vs t=0 min do mesmo genótipo. \_\_\_\_\_ 61



**Figura 17.** Concentração sérica de insulina em camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup> machos (n=7-9, A) e fêmeas (n=7-8, B) tratados com dieta regular (RD) ou hiperlipídica (HFD) com 18 a 23 semanas de idade (Apêndice M). Valores expressos como média ± EPM. Dados analisados pelo teste ANOVA de duas vias, seguido do pós-teste de Tukey. \*\*p<0,01 POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> vs STAT3<sup>Fl/Fl</sup>. \_\_\_\_\_ 62

**Figura 18.** Concentração sérica de leptina em camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup> machos (n=7-9, A) e fêmeas (n=7-8, B) tratados com dieta regular (RD) ou hiperlipídica (HFD) com 18 a 23 semanas de idade (Apêndice N). Valores expressos como média ± EPM. Dados analisados pelo teste ANOVA de duas vias, seguido do pós-teste de Tukey. \*\*p<0,01 POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> vs STAT3<sup>Fl/Fl</sup>. \_\_\_\_\_ 63

**Figura 19.** Peso absoluto do tecido adiposo branco retroperitoneal (TABr) (A-B) e peso do TABr corrigido pelo peso corporal (PC) (C-D) de camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup> machos (n=7-9, painéis da esquerda) e fêmeas (n=7-8, painéis da direita) tratados com dieta regular (RD) ou hiperlipídica (HFD) com 18 a 20 semanas de idade (Apêndices O e P). Valores expressos como média ± EPM. Dados analisados pelo teste ANOVA de duas vias, seguido do pós-teste de Tukey. \* p<0,05, \*\*p<0,01 POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> vs STAT3<sup>Fl/Fl</sup>. \_\_\_\_\_ 65

**Figura 20.** Peso absoluto do fígado (A-B) e peso do fígado corrigido pelo peso corporal (PC) no dia do experimento (C-D) de camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup> machos (n=7-9, painéis da esquerda) e fêmeas (n=7-8, painéis da direita) tratados com dieta regular (RD) ou hiperlipídica (HFD) com 18 a 23 semanas de idade (Apêndices Q e R). Valores expressos como média ± EPM. Dados analisados pelo teste ANOVA de duas vias, seguido do pós-teste de Tukey. \* p<0,05, \*\*p<0,01 POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> vs STAT3<sup>Fl/Fl</sup>. \_\_\_\_\_ 66

**Figura 21.** Variação do peso corporal (A) e ingestão alimentar acumulada, em gramas (g) (B), de camundongos machos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup>, tratados com salina (n=9-7) ou CNTF (n=8-6, 0,1µg/g, 3 doses, 1 vez/dia, via intraperitoneal), sob dieta regular (RD). As setas indicam o tratamento com salina ou CNTF. Valores expressos como média ± EPM (Apêndices S e T). Dados analisados pelo teste ANOVA de duas vias, seguido do pós-teste de Tukey. \* p<0,05 POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> salina vs CNTF; + p<0,05 STAT3<sup>Fl/Fl</sup> salina vs CNTF. \_\_\_\_\_ 68

**Figura 22.** Imunofluorescência para pSTAT3 (verde) e  $\alpha$ MSH (vermelho) após estímulo com CNTF (0,1  $\mu$ g/g, 3 dias, ip) em camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>F1/F1</sup> e STAT3<sup>F1/F1</sup> machos (6-8 semanas), alimentados com RD, perfundidos 45 minutos após a administração da última dose de CNTF. 3V - Terceiro ventrículo; VMH – Núcleo ventromedial do hipotálamo; ARC – núcleo arqueado do hipotálamo. Escalas: 100  $\mu$ m (aumento de 20x) e 50  $\mu$ m (aumento de 40x). \_\_\_\_\_ 70

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Primers utilizados nas reações de PCR. _____	46
<b>Tabela 2.</b> Reações de PCR para genotipagem. _____	46
<b>Tabela 3.</b> Condições das reações de PCR. _____	47
<b>Tabela 4.</b> Concentração dos anticorpos utilizados na imunofluorescência. _____	49
<b>APÊNDICES</b> _____	110
<b>Tabela 5.</b> Peso corporal (g) de camundongos machos STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD. _____	111
<b>Tabela 6.</b> Peso corporal (g) de camundongos machos POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD. _____	112
<b>Tabela 7.</b> Peso corporal (g) de camundongos fêmeas STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD. _____	113
<b>Tabela 8.</b> Peso corporal (g) de camundongos fêmeas POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD. _____	114
<b>Tabela 9.</b> Peso corporal (g) de camundongos machos STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> alimentados com HFD. _____	115
<b>Tabela 10.</b> Peso corporal (g) de camundongos machos POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> alimentados com HFD. _____	116
<b>Tabela 11.</b> Peso corporal (g) de camundongos fêmeas STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> alimentados com HFD. _____	117
<b>Tabela 12.</b> Peso corporal (g) de camundongos fêmeas POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> alimentados com HFD. _____	118
<b>Tabela 13.</b> Ingestão alimentar acumulada (g) de camundongos machos STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD. _____	119

<b>Tabela 14.</b> Ingestão alimentar acumulada (g) de camundongos machos POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>F1/F1</sup> alimentados com RD.	120
<b>Tabela 15.</b> Ingestão alimentar acumulada (g) de fêmeas STAT3 <sup>F1/F1</sup> alimentados com RD.	121
<b>Tabela 16.</b> Ingestão alimentar acumulada (g) de camundongos fêmeas POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>F1/F1</sup> alimentados com RD.	122
<b>Tabela 17.</b> Ingestão semanal acumulada (g) de camundongos machos STAT3 <sup>F1/F1</sup> alimentados com HFD.	123
<b>Tabela 18.</b> Ingestão alimentar acumulada (g) de camundongos machos POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>F1/F1</sup> alimentados com HFD.	124
<b>Tabela 19.</b> Ingestão alimentar acumulada (g) de camundongos fêmeas STAT3 <sup>F1/F1</sup> alimentados com HFD.	125
<b>Tabela 20.</b> Ingestão alimentar acumulada (g) de camundongos fêmeas POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>F1/F1</sup> alimentados com HFD.	126
<b>Tabela 21.</b> Taxa de eficiência alimentar (FER) de camundongos machos e fêmeas STAT3 <sup>F1/F1</sup> e POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>F1/F1</sup> alimentados com RD.	127
<b>Tabela 22.</b> Taxa de eficiência alimentar (FER) de camundongos machos e fêmeas STAT3 <sup>F1/F1</sup> e POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>F1/F1</sup> alimentados com HFD.	128
<b>Tabela 23.</b> Glicemia de camundongos machos STAT3 <sup>F1/F1</sup> e POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>F1/F1</sup> alimentados com RD.	129
<b>Tabela 24.</b> Glicemia de camundongos fêmeas STAT3 <sup>F1/F1</sup> e POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>F1/F1</sup> alimentados com RD.	130
<b>Tabela 25.</b> Glicemia de camundongos machos STAT3 <sup>F1/F1</sup> e POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>F1/F1</sup> alimentados com HFD.	131
<b>Tabela 26.</b> Glicemia de camundongos fêmeas STAT3 <sup>F1/F1</sup> e POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>F1/F1</sup> alimentados com HFD.	132

<b>Tabela 27.</b> GTT de camundongos machos STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.	133
<b>Tabela 28.</b> GTT de camundongos fêmeas STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.	134
<b>Tabela 29.</b> ITT de camundongos machos STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.	135
<b>Tabela 30.</b> ITT de camundongos fêmeas STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.	136
<b>Tabela 31.</b> Concentração sérica de insulina (ng/mL) de camundongos machos e fêmeas STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.	137
<b>Tabela 32.</b> Concentração sérica de insulina (ng/mL) de camundongos machos e fêmeas STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> alimentados com HFD.	138
<b>Tabela 33.</b> Concentração sérica de leptina (ng/mL) de camundongos machos e fêmeas STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.	139
<b>Tabela 34.</b> Concentração sérica de leptina (ng/mL) de camundongos machos e fêmeas STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> alimentados com HFD.	140
<b>Tabela 35.</b> Peso absoluto do TABr (g) de camundongos machos e fêmeas STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.	141
<b>Tabela 36.</b> Conteúdo de TABr (g) corrigido pelo peso corporal (PC) (g) de camundongos machos e fêmeas STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.	142
<b>Tabela 37.</b> Peso absoluto do TABr (g) de camundongos machos e fêmeas STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> alimentados com HFD.	143
<b>Tabela 38.</b> Conteúdo de TABr (g) corrigido pelo peso corporal (PC) (g) de camundongos machos e fêmeas STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup> alimentados com HFD.	144

**Tabela 39.** Peso absoluto do fígado (g) de camundongos machos e fêmeas  $STAT3^{Fl/Fl}$  e  $POMC-cre^{(cre/+)}$ ;  $STAT3^{Fl/Fl}$  alimentados com RD. \_\_\_\_\_ 145

**Tabela 40.** Conteúdo de fígado (g) corrigido pelo peso corporal (PC) (g) de camundongos machos e fêmeas  $STAT3^{Fl/Fl}$  e  $POMC-cre^{(cre/+)}$ ;  $STAT3^{Fl/Fl}$  alimentados com RD. \_\_\_\_\_ 146

**Tabela 41.** Peso absoluto do fígado (g) de camundongos machos e fêmeas  $STAT3^{Fl/Fl}$  e  $POMC-cre^{(cre/+)}$ ;  $STAT3^{Fl/Fl}$  alimentados com HFD. \_\_\_\_\_ 147

**Tabela 42.** Conteúdo de fígado (g) corrigido pelo peso corporal (PC) (g) de camundongos machos e fêmeas  $STAT3^{Fl/Fl}$  e  $POMC-cre^{(cre/+)}$ ;  $STAT3^{Fl/Fl}$  alimentados com HFD. \_\_\_\_\_ 148

**Tabela 43.** Variação do peso corporal (g) de camundongos machos  $STAT3^{Fl/Fl}$  que receberam CNTF ou salina. \_\_\_\_\_ 149

**Tabela 44.** Variação do peso corporal (g) de camundongos machos  $POMC-cre^{(cre/+)}$ ;  $STAT3^{Fl/Fl}$  que receberam CNTF ou salina. \_\_\_\_\_ 150

**Tabela 45.** Ingestão alimentar acumulada (g) de camundongos machos  $STAT3^{Fl/Fl}$  que receberam CNTF ou salina. \_\_\_\_\_ 151

**Tabela 46.** Ingestão alimentar acumulada (g) de camundongos machos  $POMC-cre^{(cre/+)}$ ;  $STAT3^{Fl/Fl}$  que receberam CNTF ou salina. \_\_\_\_\_ 152

## LISTA DE SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AgRP	Proteína Relacionada à Agouti
AKT	Proteína Quinase B
AMP	Monofosfato de Adenosina
AMPK	Proteína Quinase Ativada por AMP
ARC	Núcleo Arqueado do Hipotálamo
ATP	Trifosfato de Adenosina
BDNF	<i>Brain-derived neurotrophic factor</i> – Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro
BHE	Barreira hematoencefálica
CART	Transcrito Regulado por Cocaína e Anfetamina
CNTF	Fator Neurotrófico Ciliar
CNTFR	Receptor do Fator Neurotrófico Ciliar
CNTFR $\alpha$	Subunidade Específica do Receptor de CNTF
CRF	Fator liberador de corticotrofina
CRF-R2	Receptor de CRF do tipo 2
DIO	Obesidade Induzida por Dieta
DM2	Diabetes mellitus do tipo 2
DMH	Núcleo Dorsomedial do Hipotálamo
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ELA	Esclerose Lateral Amiotrófica
EM	Eminência mediana
EPM	Erro padrão da média

ERK	Quinase regulada por sinais extracelulares
FER	<i>Food efficiency ratio</i> – Taxa de eficiência alimentar
FoxO1	Fator de Transcrição <i>forkhead box 1</i>
GFAP	Proteína Ácida Fibrilar Glial
GM-CSF	Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos e Macrófagos
gp130	Glicoproteína de 130 kDa
GTT	Teste de Tolerância à Glicose
HDL	<i>High density lipoprotein</i> - Lipoproteína de alta densidade
HFD	Dieta Hiperlipídica
HMB	Hipotálamo Medial Basal
icv	Intracerebroventricular
iIp	Intraperitoneal
IL- 1 $\beta$	Interleucina 1-Beta
IL- 6R	Receptor de Interleucina 6
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IR	Receptor de insulina
IRS	Substrato para o Receptor de Insulina
ITT	Teste de Tolerância à Insulina
JAK2	<i>Janus Kinase</i> - Proteína Janus Quinase 2
kcal	Quilocalorias
Lep	Leptina
LepR	Receptor de Leptina
LepRa,c-f	Isoformas Curtas ou Secretadas do Receptor de Leptina



LepRb	Isoforma Longa do Receptor de Leptina
LHA	Área Hipotalâmica Lateral
LIF	Fator Inibidor de Leucemia
LIFR	Receptor do LIF
MAPK	Proteína Quinase Ativada por Mitógeno
MC3R	Receptor de Melanocortina 3
MC4R	Receptor de Melanocortina 4
mTOR	<i>Mechanistic target of rapamycin</i>
NAFLD	<i>Non-alcoholic fatty liver disease</i> – Doença hepática gordurosa não alcoólica
NIH	<i>National Institute of Health</i> – Instituto Nacional da Saúde
NPY	Neuropeptídeo Y
NTS	Núcleo do Trato Solitário
OVX	Ovariectomia
PBS	Tampão salina fosfato
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PI3K	Fosfatidilinositol 3 – Quinase
PMV	Núcleo pré-mamilar ventral
POA	Área Pré-Óptica
POMC	Proopiomelanocortina
PTP1B	<i>Protein tyrosine phosphatase 1B</i> – Fosfatase de Tirosina Proteica 1B
PVN	Núcleo Paraventricular do Hipotálamo
rhCNTF	Fator Neurotrófico Ciliar Recombinante Humano
RNAm	Ácido Ribonucleico Mensageiro
SF1	<i>Steroidogenic Factor 1</i> – Fator esteroidogênico 1

SH2	Domínio de Homologia Src2
SH2B1	Proteína adaptadora SH2B do tipo 1
SHP2	Proteína Tirosina Fosfatase 2
SM	Síndrome metabólica
SNC	Sistema nervoso central
SOCS3	<i>Supressor of Cytokine Signaling 3</i> - Supressor de Sinalização de Citocinas 3
STAT1	<i>Signal Transducer and Activator of Transcription 1</i> – Proteína transdutora de sinal e ativadora de transcrição 1
STAT3	<i>Signal Transducer and Activator of Transcription 3</i> – Proteína transdutora de sinal e ativadora de transcrição 3
STAT5	<i>Signal Transducer and Activator of Transcription 5</i> – Proteína transdutora de sinal e ativadora de transcrição 5
TABi	Tecido adiposo branco inguinal
TABr	Tecido adiposo branco retroperitoneal
TAM	Tecido adiposo marrom
TCPTP	<i>T-cell protein tyrosine phosphatase</i> – Fosfatase de tirosina proteica de célula T
Tyr	Tirosina
VMH	Hipotálamo ventromedial
VTA	Área tegmental ventral
WHO	<i>World Health Organization</i> – Organização Mundial da Saúde
$\alpha$ -MSH	<i><math>\alpha</math>-Melanocyte-stimulating hormone</i> – Hormônio estimulante de melanócitos alfa
3V	Terceiro ventrículo

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	27
2.	OBJETIVOS	39
2.1.	<i>Objetivo geral</i>	39
2.2.	<i>Objetivos específicos</i>	39
3.	MATERIAL E MÉTODOS	41
3.1.	<i>Animais</i>	41
3.2.	<i>Procedimentos experimentais</i>	42
3.3.	<i>Procedimentos laboratoriais</i>	46
3.4.	<i>Análise estatística</i>	50
4.	RESULTADOS	52
5.	DISCUSSÃO	72
6.	CONCLUSÃO	82
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
	APÊNDICES	111

# **Introdução**

## 1. INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (WHO), nos últimos quarenta anos, a prevalência de obesidade e sobrepeso tem aumentado consideravelmente; em 2016, 39% dos adultos foram considerados com sobrepeso e 13% obesos (WHO, 2019). Ao considerar a população adulta mundial de ambos os sexos, cerca de dois bilhões de adultos foram considerados acima do peso e mais de 650 milhões foram considerados clinicamente obesos em 2016 (WHO, 2017A). No Brasil, em 2016, 22,1% da população adulta de ambos os sexos foi considerada obesa e 56,5 %, com sobrepeso (WHO, 2017A; WHO, 2017B).

A obesidade se caracteriza por um desequilíbrio entre a quantidade de calorias ingeridas e o gasto energético (HUBRY & HU, 2015; NILLNI, 2018). Além disso, indivíduos obesos estão mais propensos a desenvolver síndrome metabólica (SM) (BROWN *ET AL.*, 2009). A SM se caracteriza pela presença de três ou mais fatores de risco, os quais incluem: aumento da adiposidade abdominal, concentrações séricas elevadas de triglicédeos, e redução de lipoproteínas de alta densidade (HDL), aumento da pressão sanguínea, bem como concentração sanguínea elevada de glicose de jejum (GRUNDY, 2005; SHERLING *ET AL.*, 2017). Indivíduos obesos também são mais susceptíveis ao desenvolvimento de outras doenças (CABALLERO, 2003), como a hipertensão e a aterosclerose (DE HEREDIA *ET AL.*, 2012), diabetes mellitus do tipo 2 (DM2) (SIDDIQUI, 2018), dentre outras comorbidades como depressão (LUPPINO *ET AL.*, 2010; BAKER *ET AL.*, 2017) e ansiedade (SCOTT *ET AL.*, 2008; BAKER *ET AL.*, 2017). Sendo assim, o estudo da fisiopatologia e dos mecanismos que contribuem para o desenvolvimento da obesidade é fundamental para o estabelecimento de medidas efetivas de intervenção que contribuam para a diminuição de sua prevalência, tanto quanto das comorbidades associadas.

A ingestão alimentar é um comportamento motivado cuja regulação é coordenada por mediadores centrais evocados por mecanismos homeostáticos e hedônicos (ELIAS & BITTENCOURT, 2012; YU *ET AL.*, 2015; BERTHOUD, *ET AL.*, 2017; YU, 2017; ROSSI & STUBER, 2018). Além disso, a ingestão alimentar é regulada por mediadores provenientes de tecidos e órgãos periféricos, como o tecido adiposo, o fígado e o pâncreas, que fornecem informações sobre o estado nutricional e o estoque energético do indivíduo para o sistema nervoso central (SNC) (SAHU, 2003; NEARY *ET AL.*, 2004; ELIAS & BITTENCOURT, 2012; WILLIAMS, 2012). Estas informações são integradas em núcleos hipotalâmicos específicos que participam da manutenção da homeostase energética (ELIAS & BITTENCOURT, 2012; WILLIAMS, 2012; ROSSI & STUBER, 2018).

O núcleo arqueado (ARC) do hipotálamo participa da integração dos sinais metabólicos e humorais (MYERS & OLSON, 2012, TIMPER & BRUNING, 2017) e está localizado próximo à eminência mediana (EM), um órgão circumventricular rico em capilares fenestrados, que facilitam o transporte de hormônios e outros sinais periféricos que são detectados por neurônios e células não neuronais presentes neste núcleo hipotalâmico (RODRÍGUEZ *ET AL.*, 2010, TIMPER & BRUNING, 2017). Os neurônios do ARC integram o sistema da melanocortina central (CONE, 2005) e é composto principalmente por duas populações funcionalmente distintas de neurônios: uma população que expressa os neuropeptídeos orexígenos NPY (Neuropeptídeo Y) e AgRP (Proteína relacionada a *agouti*) e, a outra que expressa os neuropeptídeos anorexígenos POMC (Pró-opiomelanocortina) e CART (Transcrito regulado por cocaína e anfetamina) (LI, 2011).

Os neurônios que expressam POMC no ARC se projetam para outros núcleos hipotalâmicos, entre eles o núcleo paraventricular (PVN), o núcleo dorsomedial (DMH), o núcleo ventromedial (VMH) e a área hipotalâmica lateral (LHA), que por sua vez, processam as informações recebidas e enviam projeções para estruturas extra-hipotalâmicas promovendo uma resposta integrada entre a ingestão alimentar e o gasto energético (CONE, 2005; ROH *ET AL.*, 2016; TIMPER & BRUNING, 2017). A mutação do gene da POMC induz o estabelecimento precoce de obesidade, devido à hiperfagia grave como resultado da falta do hormônio estimulante de melanócitos alfa ( $\alpha$ -MSH) (KÜHNER *ET AL.*, 2016). Assim, a deficiência de POMC resulta na alteração da pigmentação da pele e do cabelo, desenvolvimento anormal da adrenal e aumento excessivo do peso corporal nos primeiros anos de vida (KRUDE *ET AL.*, 1998; KRUDE & GRÜTER, 2000). Em camundongos, a mutação do gene da POMC causa também obesidade e hiperfagia (YASWEN *ET AL.*, 1999; XU *ET AL.*, 2005).

Os neurônios POMC são alvos da leptina (CHEUNG *ET AL.*, 1997; COWLEY *ET AL.*, 2001), uma proteína composta por 146 aminoácidos que é sintetizada principalmente no tecido adiposo branco (TAB) de forma proporcional à quantidade de triglicerídeos estocados neste tecido (FREDERICH *ET AL.*, 1995B). A leptina consiste em um indicador de longo prazo do estoque energético (MAFFEI *ET AL.*, 1995; FREDERICH *ET AL.*, 1995A; ALLISON & MYERS, 2014) e atua no ARC, onde inibe neurônios que expressam neuropeptídeos orexígenos (AgRP/NPY) e estimula neurônios que expressam neuropeptídeos anorexígenos (POMC/CART) (COWLEY *ET AL.*, 2001).

A ação da leptina é desencadeada pela ligação ao seu receptor, codificado pelo gene *Lepr* em camundongos (LEE *ET AL.*, 1996; CHEN *ET AL.*, 1996). Seis isoformas deste receptor,

que se originam por *splicing* alternativo, foram descritas e apresentam um domínio extracelular comum (LepR), as quais foram nomeadas LepRa-f (LEE *ET AL.*, 1996). As formas curtas ou secretadas (LepRa, LepRc-f) são expressas em quase todos os tecidos do organismo (LEE *ET AL.*, 1996). Já a isoforma longa (302 aminoácidos), LepRb, medeia as ações centrais da leptina no controle da ingestão alimentar e do gasto energético e é expressa em alguns núcleos hipotalâmicos e no tronco cerebral (MERCER *ET AL.*, 1996; TARTAGLIA *ET AL.*, 1997). No hipotálamo, LepRb é expresso principalmente nos núcleos ARC, VMH, DMH e pré-mamilar ventral (PMV) (MERCER *ET AL.*, 1996; SHIODA *ET AL.*, 1998; SCOTT *ET AL.*, 2008, PATTERSON *ET AL.*, 2011; LI & LI, 2016). Essa isoforma do receptor de leptina também é expressa em regiões extra-hipotalâmicas, tais como a área tegmental ventral (VTA) e o núcleo do trato solitário (NTS) (ELMQUIST *ET AL.*, 1998; HOMMEL *ET AL.*, 2006; MATHENY *ET AL.*, 2014). A deleção específica de LepRb em neurônios POMC resulta em um fenótipo obeso (BALTHASAR *ET AL.*, 2005) e em tolerância reduzida à glicose (HILL *ET AL.*, 2010; FAULKNER *ET AL.*, 2015).

Quando LepRb é ativado pela leptina, ocorre fosforilação de resíduos de tirosina e desencadeia uma cascata de eventos bioquímicos que culminam na transcrição de genes por meio de várias vias, entre elas a JAK2/STAT3, a MAPK/ERK e a PI3K/AKT (BITTENCOURT & ELIAS, 2005; MORRIS & RUI, 2009; ALLISON & MYERS, 2014). Ou seja, quando a leptina se liga ao LepRb, promove a fosforilação da proteína Janus quinase 2 (JAK2) que, por sua vez, fosforila resíduos de tirosina (Tyr<sub>1077</sub>, Tyr<sub>985</sub> e Tyr<sub>1138</sub>) específicos na cauda citosólica longa desse receptor (BANKS *ET AL.*, 2000), os quais atuam como sítios de ligação para proteínas efetoras por meio do domínio de homologia Src2 (SH2) (BANKS *ET AL.*, 2000, GONG *ET AL.*, 2007).

A fosforilação do resíduo Tyr<sub>1077</sub> do LepRb recruta a proteína transdutora de sinal e ativadora de transcrição 5 (STAT5) (BATES *ET AL.*, 2003; HEKERMANN *ET AL.*, 2005; GONG *ET AL.*, 2007). A fosforilação do resíduo Tyr<sub>985</sub> promove o recrutamento da proteína fosfatase contendo 2 domínios de homologia Src (SHP-2) e medeia a ativação da cascata da quinase regulada por sinais extracelulares (ERK) (BJØRBAEK *ET AL.*, 1999; BANKS, *ET AL.*, 2000; GONG *ET AL.*, 2007). A fosforilação do resíduo de tirosina Tyr<sub>1138</sub> recruta a proteína transdutora de sinal e ativadora de transcrição 3 (STAT3), que é dimerizada e translocada para o núcleo, onde ativa a transcrição de genes alvos, como o gene *Pomc* (WHITE *ET AL.*, 1997; BANKS *ET AL.*, 2000) e de genes inibitórios de sua própria sinalização, como o *Socs3* (Supressor da sinalização de citocina 3) (BJØRBAEK *ET AL.*, 1999; BANKS *ET AL.*, 2000; ALLISON & MYER, 2014). Essa via é fundamental para a manutenção da homeostase

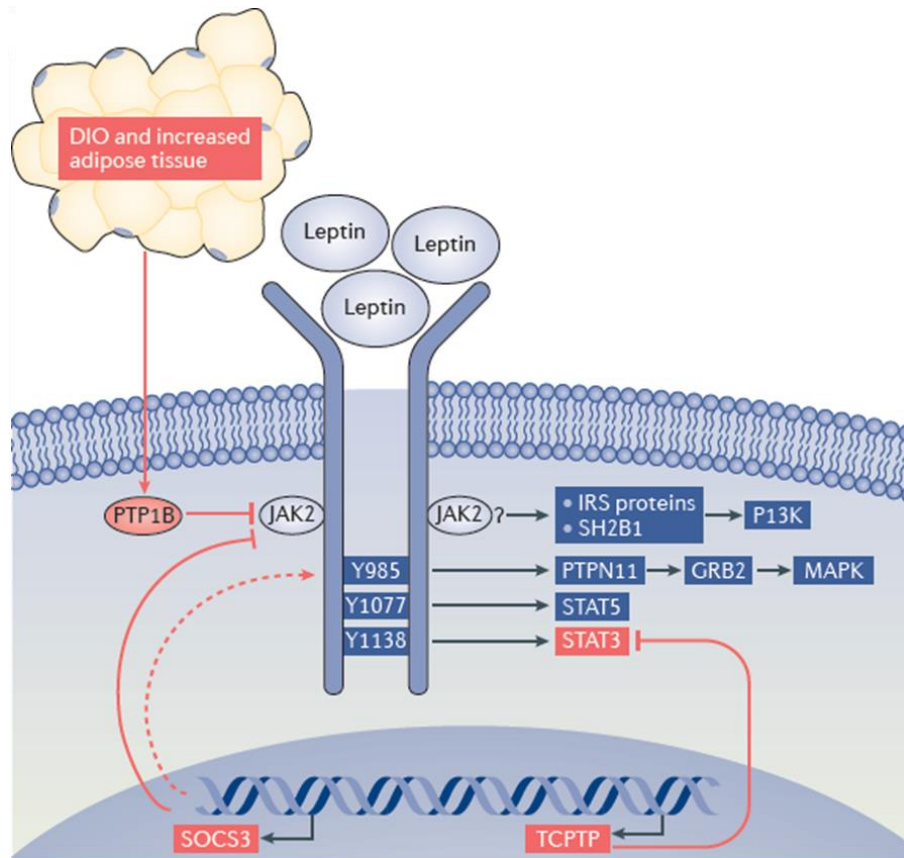
energética, uma vez que, camundongos com mutação no resíduo Tyr<sub>1138</sub> (LepRS<sup>1138</sup>) do LepRb, apresentam fenótipo obeso decorrente da falta de ativação da sinalização da leptina mediada por STAT3, demonstrando a importância deste fator nas ações da leptina (BATES *ET AL.*, 2003; GAO *ET AL.*, 2007). Além disso, a sinalização da STAT3 promove a expressão de SOCS3, que por sua vez atenua a sinalização de LepRb e explica a resistência à leptina em alguns modelos que apresentam aumento da expressão deste fator (BJØRBAEK *ET AL.*, 1999; BJØRBAEK *ET AL.*, 2000; MÜNZZBERG *ET AL.*, 2005; GONG *ET AL.*, 2007) (Figura 1).

Devido ao seu tamanho, a leptina (16 kDa) não atravessa a barreira hematoencefálica (BHE) e, portanto, tem acesso direto ao SNC na região dos órgãos circumventriculares, que são desprovidos de barreira hematoencefálica (BHE), assim como a neurônios que expressam LepRb no hipotálamo médio-basal (FAOUZI *ET AL.*, 2007). Na obesidade, há um déficit desse transporte (BANKS *ET AL.*, 1999), visto que a relação entre o conteúdo de leptina no fluido cérebro-espinal e sérica está diminuída (CARO *ET AL.*, 1996; SCHWARTZ *ET AL.*, 1996), contribuindo para a resistência à leptina, uma vez que o transporte deste hormônio é saturável (BANKS *ET AL.*, 1996; LI & LI, 2016). Assim, durante a obesidade, seu transporte é saturado, bloqueando o acesso deste hormônio ao SNC (CRUJEIRAS *ET AL.*, 2015). A obesidade também leva ao aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina 6 (IL-6), a interleucina 12 (IL-12) e o fator neurotrófico tumoral (TNF $\alpha$ ) (DE HEREDIA *ET AL.*, 2012; DALAMAGA *ET AL.*, 2013), as quais parecem se originar no tecido adiposo e, posteriormente alcançar a circulação sistêmica (DE HEREDIA *ET AL.*, 2012). Citocinas inflamatórias, como IL-6, IL-1 $\beta$  e TNF $\alpha$ , também são produzidas por células gliais, tais como astrócitos e micróglia, também contribuem para o quadro inflamatório observado em indivíduos obesos (RAHMAN *ET AL.*, 2018A, RAHMAN *ET AL.*, 2018B). A produção dessas citocinas promove atenuação da resposta à ação da leptina, levando também ao quadro de resistência à leptina e hiperleptinemia (DE HEREDIA *ET AL.*, 2012).

A sinalização da leptina é negativamente regulada pela SOCS3, pela fosfatase de tirosina proteica 1B (PTP1B) e fosfatase de tirosina proteica de células T (TCPTP), cujos níveis estão elevados em camundongos obesos e contribuem para a atenuação da sinalização e para a resistência à leptina (BJØRBAEK *ET AL.*, 1999; WHITE *ET AL.*, 2009; LOH *ET AL.*, 2011; LI & LI, 2016). SOCS3 diminui a sinalização da leptina ao se ligar ao resíduo Tyr<sub>985</sub> do LepR, inibindo a fosforilação de JAK2 e promovendo o feedback negativo e prevenindo a hiperativação das vias de sinalização da leptina (BJØRBAEK *ET AL.*, 2000). Por outro lado, PTP1B e TCPTP promovem, respectivamente, a desfosforilação de JAK2 e de



STAT3 (ZHOU & RUI, 2013), limitando a ação da leptina, culminando no quadro de resistência à leptina (Figura 1).



**Figura 1.** Via de sinalização da leptina e resistência à leptina. Em um indivíduo normal, quando o receptor de leptina (LepRb) é ativado pela leptina, a proteína janus quinase 2 (JAK2) é fosforilada. JAK2 fosforilada, então, fosforila resíduos de tirosina específicos (Y985, Y1077, Y1138) na porção citosólica do LepRb. A fosforilação de Y1077 recruta a proteína transdutora de sinal e ativadora de transcrição 5 (STAT5), a fosforilação de Y985 medeia a ativação da via da MAPK e, a fosforilação de Y1138 recruta a proteína transdutora de sinal e ativadora de transcrição 3 (STAT3). A ativação de STAT3 promove a transcrição do gene *Pomc* (não representado) e de genes que inibem a sua própria sinalização, como o *Socs3* (Supressor da sinalização de citocina 3), que inibe JAK2 e também se liga ao Y985 fosforilado, bloqueando a sinalização da leptina.. Além disso, a TCPTP (fosfatase de tirosina proteica de células T) e a PTP1B (fosfatase de tirosina proteica 1B) inibem, respectivamente, STAT3 e JAK2. A leptina também ativa a via da PI3K por meio do recrutamento de substratos do receptor de insulina (IRS). Em indivíduos obesos, o conteúdo de tecido adiposo está aumentado assim como os níveis de leptina. Conseqüentemente, o aumento da sinalização por meio do LepRb promove o aumento da expressão de SOCS3, TCPTP e PTP1B e, com isso, atenua a resposta à ação da leptina (extraída de PAN & MYERS, 2018).

Apesar de seu papel no controle da homeostase energética, a administração de leptina não é considerada um método efetivo no tratamento da obesidade, uma vez que não é capaz de reverter o quadro de resistência a esse hormônio que se estabelece tanto em camundongos quanto em indivíduos obesos (FREDERIC *ET AL.*, 1995A; HEYMSFIELD *ET AL.*, 1999). Diante disso, a busca por diferentes vias que participam no controle homeostático do balanço energético e/ou de mecanismos farmacológicos distintos capazes de atenuar a obesidade tornou-se necessária. Um desses mecanismos compreende o uso terapêutico de neurotrofinas (PASQUIN *ET AL.*, 2015; JANOSCHEK *ET AL.*, 2006) que, além de seus efeitos no crescimento e diferenciação neuronal, assim como na formação e plasticidade sináptica (HUANG & REICHARDT, 2001; CHAO, 2003; XU & XIE, 2016), também contribuem para o controle do peso corporal (RIOS, 2018). Entre as neurotrofinas que apresentam estes efeitos estão: o BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro), NGF (fator de crescimento nervoso), NT-3 (neurotrofina 3), NT-4 (neurotrofina 4), GDNF (fator neurotrófico derivado de glia) e o CNTF (fator neurotrófico ciliar) (PIMENTEL, *ET AL.*, 2014; RIOS, 2018; MA *ET AL.*, 2019), que é o foco do presente trabalho.

O CNTF é uma citocina que pertence à família de citocinas helicoidais de classe I com peso molecular de aproximadamente 20 kDa, composta por quatro  $\alpha$ -hélices dispostas de forma anti-paralela conectadas por duas pontes cruzadas e um circuito curto entre uma das hélices (MCDONALD *ET AL.*, 1995; KALLEN *ET AL.*, 1999; SLEEMAN *ET AL.*; 2000), cuja meia-vida é de três minutos em ratos (DITTRICH, *ET AL.*, 1994; PASQUIN *ET AL.* 2015) e entre 120 e 400 minutos em humanos (CEDARBAUM, *ET AL.*, 1996; PASQUIN *ET AL.* 2015). A molécula de CNTF não apresenta um peptídeo-sinal e, portanto, não é secretada de forma clássica via retículo endoplasmático-complexo de Golgi (STOCKLI *ET AL.*, 1989). Diante disso, acredita-se que essa citocina seja liberada após a ruptura das células gliais em resposta à lesão (STOCKLI *ET AL.*, 1989).

O CNTF foi originalmente descrito no gânglio ciliar de galinhas (ADLER *ET AL.*, 1979; MASIAKOWSKI *ET AL.*, 1991), como uma citocina capaz de promover a sobrevivência e a diferenciação de neurônios do sistema nervoso central (SNC) e periférico (SNP), cuja síntese e expressão aumentam durante o desenvolvimento pós-natal do sistema nervoso (STOCKLI *ET AL.*, 1989, 1991). A expressão de CNTF, em ratos e camundongos adultos, ocorre principalmente em células gliais, tais como as células de Schwann de nervos periféricos e em astrócitos da substância branca (STOCKLI *ET AL.*, 1991; GUTHRIE *ET AL.*, 1997; DALLNER *ET AL.*, 2002), assim como em astrócitos da substância cinzenta após lesão (GUTHRIE *ET AL.*, 1997; LEE *ET AL.*, 1997; WATT *ET AL.*, 2006). Nesse contexto, o CNTF tem

sido considerado uma possível terapia contra a perda neuronal que ocorre em diversas doenças como a esclerose lateral amiotrófica (ELA) (CEDARBAUM, 1996; MILLER *ET AL.*, 1996A; BONGIOANNI, 2004) a doença de Huntington (BLOCH *ET AL.*, 2004; EMERICH & WINN, 2004; EMERICH & THANOS, 2006), esclerose múltipla (GIESS *ET AL.*, 2002; HOFFMANN, *ET AL.*, 2002) e a doença de Alzheimer (GARCIA *ET AL.*, 2010; KAZIM, *ET AL.*, 2013). Além das células gliais, o mRNA para CNTF é expresso em outras regiões do sistema nervoso, como o bulbo olfatório, o tálamo e o hipotálamo (<https://www.proteinatlas.org/>). Além disso, é encontrado também em tecidos periféricos, como o tecido adiposo, pâncreas, fígado, músculo esquelético, tecido ósseo e estruturas reprodutivas (<https://www.proteinatlas.org/>).

O CNTF apresenta três sítios de ligação para o seu receptor (CNTFR) (PANAYOTATOS *ET AL.*, 1995; PASQUIN *ET AL.*, 2015), que é composto pela subunidade específica de ligação ao CNTF (CNTFR $\alpha$ ) (IP *ET AL.*, 1993), pela glicoproteína 130kDa (gp130) (IP *ET AL.*, 1992) e pelo receptor para o fator de leucemia (LIFR) (BOULTON *ET AL.*, 1994), os quais constituem uma estrutura capaz de promover a resposta intracelular (STAHL *ET AL.*, 1994). O CNTFR é expresso em diversas estruturas que compõem o SNC (<https://www.proteinatlas.org/>), como o hipotálamo, onde a sua subunidade CNTFR $\alpha$  é encontrado no ARC (GLOAGUEN *ET AL.*, 1997; VACHER *ET AL.*, 2008), no PVN (MACLENNAN *ET AL.*, 1996; GLOAGUEN *ET AL.*, 1997; KORDOWER *ET AL.*, 1997; LEE *ET AL.*, 1997), no núcleo supraóptico (SON) (LEE *ET AL.*, 1997), na LHA (KORDOWER *ET AL.*, 1997) e no hipotálamo tuberomamilar (LEE *ET AL.*, 1997). Periféricamente, CNTFR $\alpha$  ocorre no músculo esquelético (DAVIS *ET AL.*, 1991; IP *ET AL.*, 1993), fígado (IP *ET AL.*, 1993), adipócitos, dentre outros tecidos (SLEEMAN *ET AL.*, 2000).

O CNTF se liga à subunidade CNTFR $\alpha$  de seu receptor, ancorada ao glicosilfosfatidil-inositol (GPI) e, em seguida recruta as subunidade gp130 e LIFR, que constituem os componentes  $\beta$  do complexo do receptor (DAVIS, *ET AL.*, 1993A, IP *ET AL.*, 1993, STAHL & YANCOPOULOS *ET AL.*, 1994). A formação do heterodímero gp130/LIFR induz a ativação de uma cascata de sinalização que envolve a via da proteína quinase RAS ativada por mitógeno (ras-MAPK) e a via da JAK/STAT (PETERSON *ET AL.*, 2000; STAHL & YANCOPOULOS, 1994; STAHL *ET AL.*, 1994), assim como a via da proteína quinase ativada por AMP (AMPK) no hipotálamo e no músculo (STEINBERG *ET AL.*, 2006; WATT *ET AL.*, 2006).

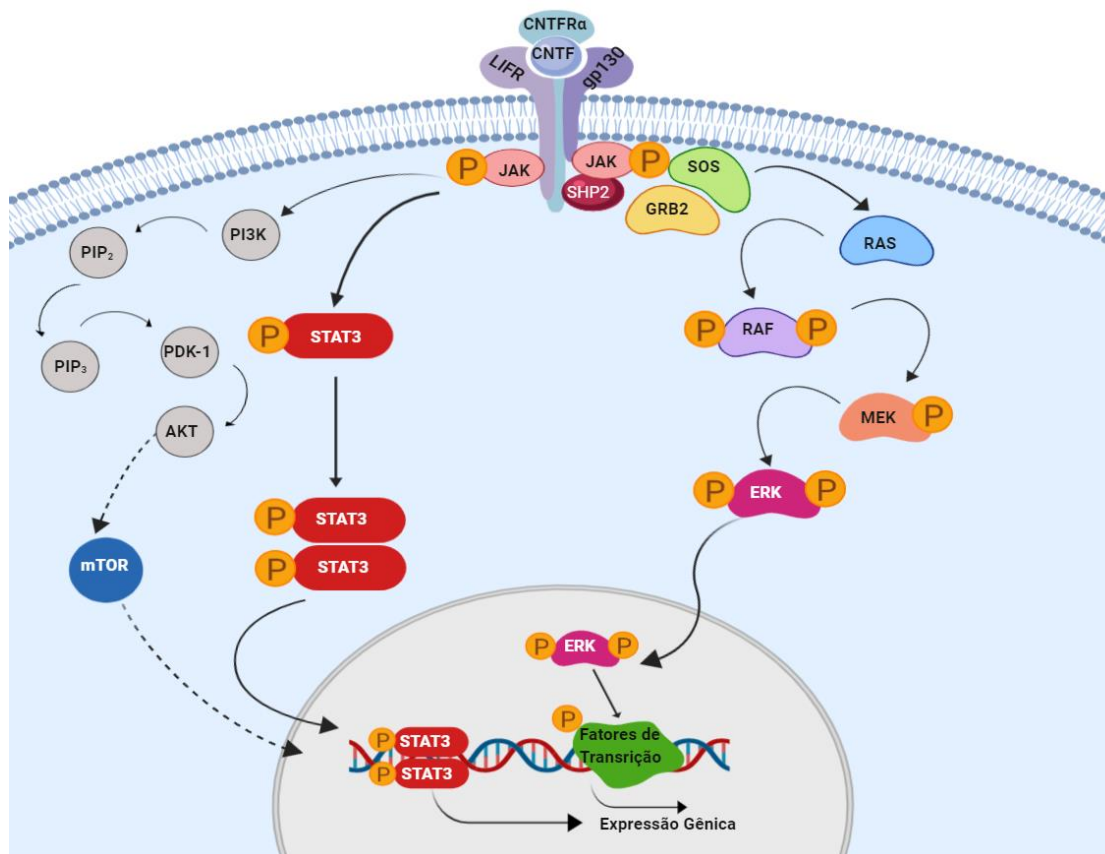
A subunidade CNTFR $\alpha$  também é encontrada em sua forma solúvel (sCNTFR $\alpha$ ) principalmente no soro e no líquido cérebro espinal (DAVIS *ET AL.*, 1993B), e promove a

transsinalização através da formação de um complexo receptor contendo a cadeia alfa do receptor para interleucina 6 (IL-6R $\alpha$ ) (DAVIS *ET AL.*, 1993B; PANAYOTATOS *ET AL.*, 1994; PETERSON *ET AL.*, 2000). Além disso, o CNTF pode se ligar à sortilina, uma glicoproteína de membrana, com maior afinidade que ao CNTFR $\alpha$ , resultando na ativação da via gp130/LIFR (LARSEN *ET AL.*, 2010 ; PASQUIN *ET AL.*, 2015).

Quando o CNTFR é ativado, inicia-se uma cascata de sinalização que envolve as vias JAK/STAT e Proteína quinase RAS ativada por mitógeno (ras-MAPK) (PETERSON *ET AL.*, 2000; STAHL *ET AL.*, 1994; STAHL & YANCOPOULOS, 1994). O CNTF ativa as proteínas Janus Quinase 1 (JAK1), JAK2 e tirosina-quinase 2 (TYK2), que fosforilam o resíduo 705 da STAT3 (Tyr<sub>705</sub>) (PETERSON *ET AL.*, 2000; BONNI *ET AL.*, 1993; WEGENKA *ET AL.*, 1993; DARNELL *ET AL.*, 1994; STAHL *ET AL.*, 1994; STAHL *ET AL.*, 1995; LUTTICKEN *ET AL.*, 1994; NARAZAKI *ET AL.*, 1994; GUSCHIN *ET AL.*, 1995). STAT3 fosforilado induz a formação de um dímero de STAT3, que é translocado para o núcleo, onde promove a transcrição de diversos genes relacionados às propriedades neuroprotetoras, crescimento e migração neuronal (BONNI *ET AL.*, 1993; WEGENKA *ET AL.*, 1994; LAI *ET AL.*, 1995). Além disso, CNTF pode ativar e fosforilar STAT1 e STAT5 (NICOLAS *ET AL.*, 2013; SEVERI *ET AL.*, 2015).

A ativação de MAPK (proteína quinase ativada por mitógeno) pelo CNTF ocorre por meio do recrutamento de SHP2 (proteína tirosina fosfatase 2), acoplamento à gp130 fosforilada pela tirosina, interação entre SHP2 e RAS associada a membrana e subsequente estimulação da via ras-MAPK (CHIN *ET AL.*, 1997; KIM & BAUMANN, 1999). Essa via resulta na ativação de ERK1/2 e tem papel importante na sobrevivência de neurônios induzida por CNTF em culturas hipotalâmicas (ASKVIG & WATT, 2013; 2015).

O CNTF também ativa a via da PI3K/AKT, importante para a captação de glicose (STEINBERG *ET AL.*, 2009) e a sobrevivência neuronal, como demonstrado em cultura hipotalâmica organotípica (ASKVIG & WATT, 2015). Outra via que é ativada pelo CNTF é a da mTOR (*mechanistic target of rapamycin*) (LEIBINGER *ET AL.*, 2012; ANDRE *ET AL.*, 2018), que é mediador dos efeitos do CNTF na neuroinflamação e no controle da homeostase energética (LEIBINGER *ET AL.*, 2012; ANDRE *ET AL.*, 2018).



**Figura 2.** Via de sinalização do CNTF. O receptor do CNTF (CNTFR) é composto por três subunidades: a subunidade específica de ligação ao CNTF (CNTFR $\alpha$ ), a glicoproteína 130kDa (gp130). Quando o CNTFR é ativado, inicia-se uma cascata de sinalização que envolve as vias JAK/STAT e Proteína quinase RAS ativada por mitógeno (ras-MAPK). O CNTF ativa as proteínas Janus Quinase (JAK) que fosforilam o resíduo 705 da STAT3 (Tyr<sub>705</sub>). STAT3 fosforilado induz a formação de um dímero de STAT3, que é translocado para o núcleo, onde promove a transcrição de diversos genes relacionados às propriedades neuroprotetoras, crescimento e migração neuronal. O CNTF também ativa e fosforila STAT1 e STAT5 (não representado). A ativação de MAPK pelo CNTF ocorre por meio do recrutamento de SHP2 (proteína tirosina fosfatase 2) e resulta na ativação de ERK1/2 e tem papel importante na sobrevivência neuronal. O CNTF também ativa a via da PI3K/AKT, importante para a captação de glicose e sobrevivência neuronal, e a via da mTOR, que medeia os efeitos do CNTF na neuroinflamação e no controle da homeostase energética. (Adaptada de: PASQUIM *ET AL.*, 2015; BEACH *ET AL.*, 2017). Figura elaborada em: <https://biorender.com/>.

O primeiro estudo clínico a demonstrar o papel do CNTF na homeostase energética foi realizado em pacientes com ELA (MILLER *ET AL.*, 1996A), uma doença que promove a degeneração progressiva do sistema nervoso, causando paralisia motora gradual e irreversível e morte precoce (HARDIMAN *ET AL.*, 2011; GRAD *ET AL.*, 2017; HARDIMAN, 2017; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019). Nesse estudo, MILLER *ET AL.* (1996A) administraram diariamente três doses diferentes de CNTF recombinante humano (rhCNTF) ou placebo por seis meses em 570 pacientes portadores de ELA e demonstraram que, apesar de o rhCNTF não afetar a progressão da doença, todos os pacientes perderam peso (MILLER *ET AL.*, 1996A). Essa resposta foi maior nos grupos que receberam 2 ou 5 µg/kg/dia em relação ao grupo placebo, porém, dois meses após o início do tratamento, a perda de peso de todos os grupos foi igual seis meses após o início do tratamento (MILLER *ET AL.*, 1996A). MILLER *ET AL.* (1996B) demonstraram ainda que, a administração subcutânea de doses superiores a 5 µg/kg produzem toxicidade (MILLER *ET AL.*, 1996A, 1996B). Ou seja, apesar de o rhCNTF não demonstrar ação benéfica na evolução do quadro de ELA, a perda de peso dos pacientes tratados com essa citocina sugere que o CNTF atue na homeostase energética (MILLER *ET AL.*, 1996A).

O efeito hipofágico e de diminuição do peso corporal promovido pelo CNTF também foi observado em indivíduos obesos que recebem rhCNTF ou placebo por 12 semanas (ETTINGER *ET AL.*, 2003). ETTINGER *ET AL.* (2003) demonstraram que os pacientes que receberam 1 ou 2 µg/kg de CNTF perderam peso em relação ao grupo que recebeu placebo durante todo o período do estudo e que, assim como descrito por MILLER *ET AL.* (1996A), este efeito ocorreu de maneira dose-dependente. ETTINGER *ET AL.* (2003) também demonstraram que o ganho de peso não ocorre imediatamente após a interrupção do tratamento, uma vez que seis meses após a sua interrupção, os pacientes tratados com CNTF ganharam apenas 0,1 kg, enquanto que o grupo placebo recuperou 1,6 kg no mesmo período (ETTINGER *ET AL.*, 2003).

Em camundongos obesos com deficiência de leptina (*ob/ob*) ou de seu receptor (*db/db*) os efeitos do CNTF na diminuição da ingestão alimentar e do peso corporal também foram observados (LAMBERT *ET AL.*, 2001; GLOAGEN *ET AL.*, 1997; SLEEMAN *ET AL.*, 2003). Esses estudos demonstraram ainda que, diferentemente da leptina, a administração diária de CNTF promoveu hipofagia e diminuição do peso corporal em camundongos com obesidade induzida pela dieta (DIO) (GLOAGUEN *ET AL.*, 1997; LAMBERT *ET AL.*, 2001). O tratamento com CNTF também promoveu a melhora de parâmetros diabetogênicos, tais como a concentração sérica de insulina e glicose em camundongos *ob/ob*, *db/db* ou DIO

(GLOAGUEN *ET AL.*, 1997; LAMBERT *ET AL.*, 2001; SLEEMAN *ET AL.*, 2003), bem como o quadro de hiperlipidemia observado nestes últimos (LAMBERT *ET AL.*, 2001). Portanto, esses resultados da literatura indicam que os efeitos do CNTF ocorrem de maneira independente da sinalização da leptina.

O CNTF atua no músculo esquelético, fígado e tecido adiposo (FEBBRAIO, 2007; ALLEN *ET AL.*, 2011; SEVERI *ET AL.*, 2015). O CNTF estimula a ação da insulina no músculo esquelético e no fígado (LAMBERT *ET AL.*, 2001; SLEEMAN *ET AL.*, 2003; FEBBRAIO, 2007), promovendo o aumento da oxidação de lipídeos por meio de um mecanismo dependente de AMPK, atenua o acúmulo de lipídeos em animais expostos à dieta hiperlipídica e, restaura os níveis basais de triacilglicerol, diacilglicerol e ceramidas no músculo esquelético (WATT *ET AL.*, 2006; FEBBRAIO, 2007). Além disso, diminui a lipogênese e estimula a oxidação de ácidos graxos no fígado (SLEEMAN *ET AL.*, 2003; ALLEN *ET AL.*, 2011).

No SNC, o CNTF induz a fosforilação de STAT3 em neurônios do ARC de camundongos *ob/ob*, assim como a leptina (LAMBERT *ET AL.*, 2001; ANDERSON *ET AL.*, 2003), em células da EM e da camada de células endodimárias do terceiro ventrículo (LAMBERT *ET AL.*, 2001; ANDERSON *ET AL.*, 2003; SEVERI *ET AL.*, 2012). Entretanto, apenas o CNTF é capaz de promover a fosforilação deste fator de transcrição no hipotálamo de camundongos DIO (LAMBERT *ET AL.*, 2001). Corroborando esses resultados, o grupo de BLÜHER *ET AL.* (2004) demonstrou que camundongos DIO, os quais são resistentes à leptina, são sensíveis tanto à administração aguda quanto prolongada de CNTF, uma vez que o CNTF parece não induzir a expressão de PTP1B (BENOMAR *ET AL.*, 2009) que, por sua vez, deixa de inibir a via de sinalização da leptina.

Considerando que, a mutação do gene da POMC causa obesidade e hiperfagia (YASWEN *ET AL.*, 1999) e que a deleção de STAT3 no SNC estabelece um fenótipo obeso (GAO *ET AL.*, 2004), a hipótese do presente trabalho é de que a via da STAT3 em neurônios POMC do ARC participa do controle da homeostase energética e glicêmica. Tendo em vista que: a) o CNTF tem ação anorexígena (LAMBERT *ET AL.*, 2001; ETTINGER *ET AL.*, 2003), b) os neurônios POMC do ARC expressam CNTFR (GLOAGUEN *ET AL.*, 1997; VACHER *ET AL.*, 2008; COUVREUR *ET AL.*, 2012), c) a deficiência da subunidade gp130 do CNTFR em neurônios POMC é capaz de abolir a resposta hipofágica do CNTF exógeno (JANOSCHEK *ET AL.*, 2006) e, d) o tratamento com CNTF promove a fosforilação de STAT3 no ARC em modelos de DIO (LAMBERT *ET AL.*, 2001), o presente estudo investigou também a participação da via da STAT3 em neurônios POMC nas ações do CNTF na homeostase energética.

## **Objetivos**



## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Avaliar a participação da via de sinalização da STAT3 em neurônios POMC do ARC nos efeitos do CNTF na homeostase energética

### **2.2. Objetivos específicos**

- ✓ Avaliar o peso corporal e a ingestão alimentar em camundongos com deleção de STAT3 em neurônios POMC do ARC com dieta regular (RD) e hiperlipídica (HFD).
- ✓ Avaliar o peso corporal e a ingestão alimentar em camundongos com deleção de STAT3 em neurônios POMC do ARC após estímulo com CNTF com dieta regular

## **Material e Métodos**

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Animais

Foram utilizados camundongos geneticamente modificados STAT3<sup>F1/F1</sup> fornecidos pelo Prof. Dr. José Donato Júnior (ICB-USP) e camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup> (Jackson Laboratory; STOCK n° 010714) (Bar Harbor, MR, EUA).

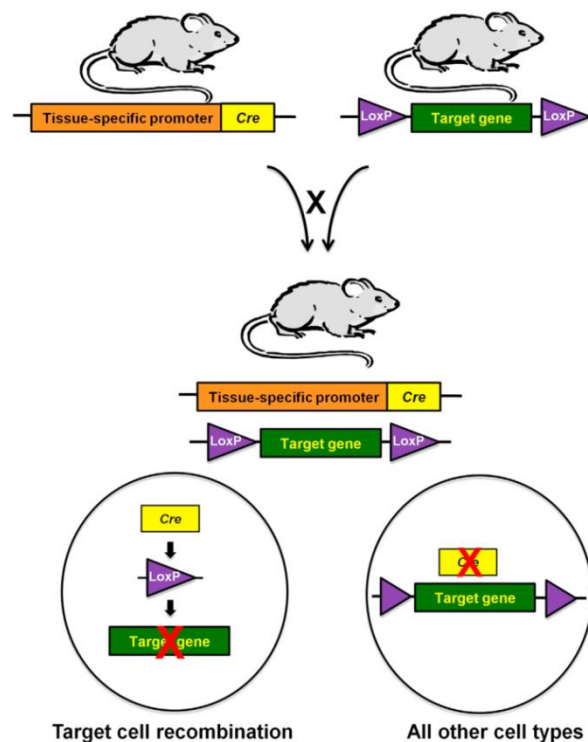
Os animais foram mantidos no biotério do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP) em microisoladores (Alesco) (19x27x13 cm), com água e ração *ad libitum*. O ambiente, onde os animais foram alojados apresenta temperatura controlada de  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  e regime de luz com ciclo claro-escuro de 12/12 horas (Claro: 6:00h às 18:00h).

Os procedimentos experimentais descritos abaixo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA 0025/2018) da FMRP-USP, que se baseia nas normas do “*Guide for the care and use of laboratory animals*” publicado pelo US National Institute of Health (NIH, Publication N°85-23, revisado em 1996) e na legislação brasileira para a experimentação animal.

### 3.2. Procedimentos experimentais

#### 3.2.1. Geração de camundongos com deleção específica de STAT3 em neurônios POMC do ARC.

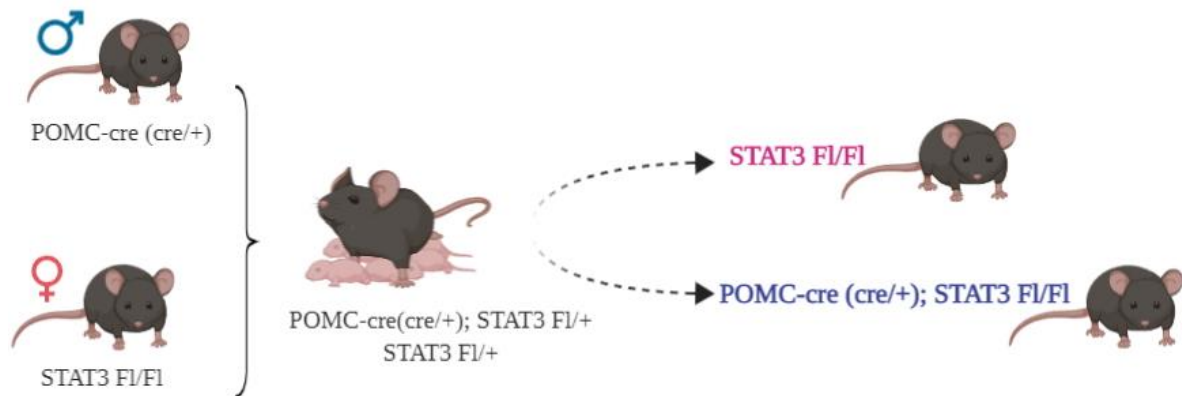
A fim de promover a deleção específica de STAT3 em neurônios POMC, foi utilizada a metodologia Cre-lox. Essa técnica de deleção sítio-específica consiste no cruzamento entre camundongos que apresentam um éxon do gene alvo, neste caso o STAT3, flanqueado por duas sequências LoxP (animais STAT3<sup>Flox</sup>) com camundongos que expressam o gene que codifica a enzima Cre-recombinase, sob o controle de um promotor específico de interesse, neste caso o promotor do gene *Pomc* (animais POMC-cre). A recombinase reconhece a região do genoma flanqueada pelas duas sequências LoxP e a remove do genoma do animal (animais POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>F1/F1</sup>) (GAVÉRIAUX-RUFF & KIEFFER, 2007; HARNO *ET AL.*, 2013) (Figura 3).



**Figura 3.** Esquema ilustrativo da metodologia Cre-lox para geração de animais com deleção condicionada (extraída de HARNO *ET AL.*, 2013).

Inicialmente os animais POMC-cre<sup>(cre/+)</sup> foram acasalados com camundongos STAT3<sup>F1/F1</sup>. A primeira geração resultou em camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>F1/+</sup> e

STAT3<sup>Fl/+</sup>. Esses animais foram acasalados, gerando camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup>, os quais foram acasalados entre si, gerando animais experimentais (POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup>) e animais controles (STAT3<sup>Fl/Fl</sup>) na proporção de 50% para cada. Foram utilizados animais da mesma ninhada para estudo (Figura 4).



**Figura 4.** Esquema da geração de camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>Fl/Fl</sup>. Figura elaborada em: <https://biorender.com/>.

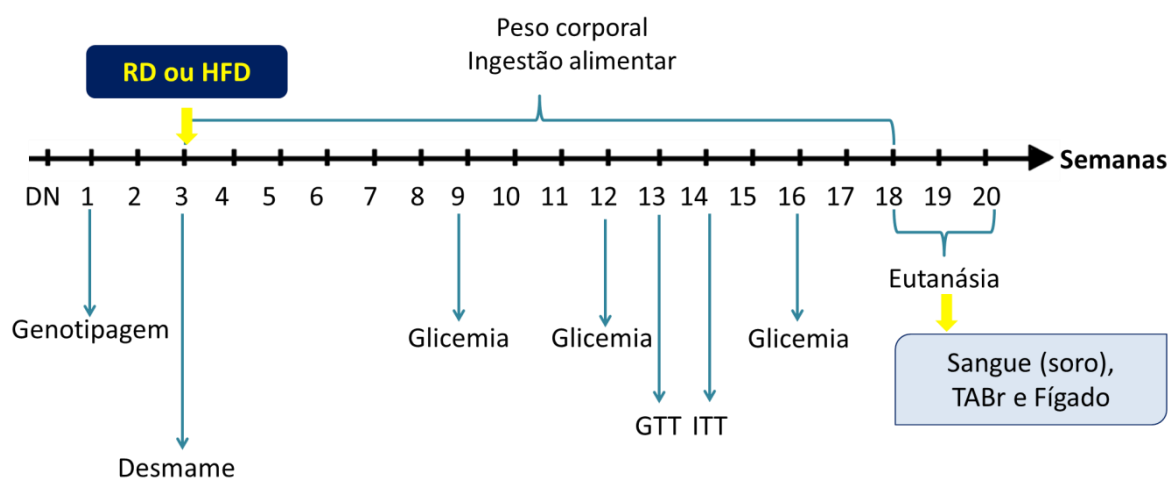
### 3.2.2. Validação da deleção de STAT3 em neurônios POMC

Foram utilizados camundongos machos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup> com 7 a 8 semanas de idade, alimentados com dieta regular (RD) (Quimtia S/A, Nuvilab CR-1 – 3,85 kcal/g, sendo 10% de lipídios, 20% de proteína e 70% de carboidrato) e água *ad libitum*. Os animais foram colocados em caixas individuais e a ração foi removida por 2 horas. Após esse período, às 14 horas, foi realizado o estímulo com leptina (0,5 mg/kg), intraperitoneal (ip) (VENÂNCIO *ET AL.*, 2017). Após 45 minutos, os animais foram anestesiados com ketamina (100 mg/kg, ip) e xilazina (10 mg/kg, ip) e, em seguida, foi realizada a perfusão para obtenção do tecido cerebral e posterior imunistoquímica para p-STAT3 e  $\alpha$ -MSH.

### 3.2.3. Efeitos da deleção específica de STAT3 em neurônios POMC no peso corporal, na ingestão de alimentos, na glicemia, na tolerância à glicose e à insulina (GTT e ITT, respectivamente) em camundongos fêmeas e machos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>Fl/Fl</sup>.

Após 21 dias do nascimento, os camundongos foram desmamados e, as fêmeas e os machos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e seus controles (STAT3<sup>Fl/Fl</sup>) foram colocados em caixas individuais com RD ou dieta hiperlipídica (HFD) (Research Diets, D12492 – 5,21

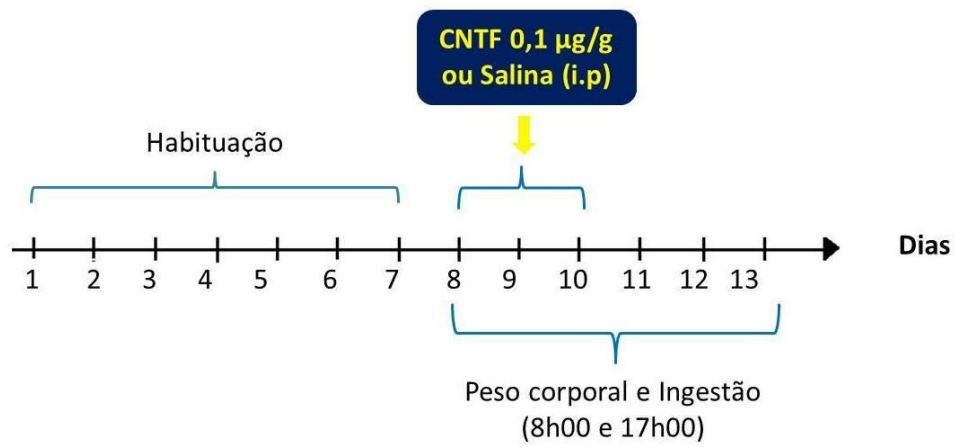
kcal/g, sendo 60% de lipídios, 20% de proteínas e 20% de carboidratos) e água *ad libitum*. O peso corporal e a média da ingestão de alimentos foram avaliados uma vez por semana até a 18ª semana. A glicemia foi avaliada na 9ª, 12ª e 16ª semanas de idade com o auxílio de um glicosímetro (Accu-chek Performa). Na 13ª semana foi realizado o GTT (teste de tolerância à glicose) e, na 14ª semana o ITT (teste de tolerância à insulina) dos animais tratados com RD. Entre a 18ª e a 23ª semana, os animais foram submetidos a jejum de 5 a 6h e eutanasiados para coleta de sangue para dosagens hormonais (leptina e insulina) e mensurado o peso do tecido adiposo branco retroperitoneal (TABr) e do fígado (Figura 5).



**Figura 5.** Protocolo experimental 1.

### 3.2.4. Efeitos da injeção intraperitoneal de CNTF no peso corporal e na ingestão alimentar de camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>Fl/Fl</sup> machos.

Após 21 dias do nascimento, camundongos machos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e seus controles STAT3<sup>Fl/Fl</sup> foram colocados em caixas coletivas (n=3 animais por caixa) com RD e água *ad libitum*. Na 8ª semana, os animais foram colocados em caixas individuais para adaptação por 7 dias e, em seguida, foi administrado 0,1µg/g CNTF (Rat Recombinant CNTF, R&D Systems, 557NT-CF) ou salina por três dias consecutivos intraperitonealmente às 17h, conforme padronização do teste realizado pelo laboratório. O peso corporal e a ingestão alimentar foram avaliados às 8h e às 17h durante o tratamento e nos dois dias seguintes após a última dose de CNTF ou salina (Figura 6).



**Figura 6.** Protocolo experimental 2.

### 3.3. Procedimentos laboratoriais

#### 3.3.1. Extração de DNA e genotipagem

Fragmentos de caudas (0,5 a 1,0 cm) foram obtidos 7 a 10 dias após o nascimento dos camundongos e utilizados para a extração do DNA. Os fragmentos foram armazenados a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento da extração do DNA. O DNA foi extraído com o Kit REDEExtract-N-Amp Tissue PCR Kit (Sigma Aldrich Biotechnology, X-NAT) e, então, submetido à reação em cadeia da polimerase (PCR) (Tabelas 1 a 3).

A eletroforese em gel de agarose (Sigma Aldrich Biotechnology, A9539) foi preparada em solução tampão de eletroforese 1x, diluído a partir do UltraPure DNA Typing Grade 50X TAE Buffer (Thermo Fisher Scientific, 24710-030), utilizando-se SYBR Safe DNA gel stain (Thermo Fisher Scientific, S33102). Foram preparados géis de agarose na concentração 3% (POMC-cre e  $\text{STAT3}^{\text{Flox}}$ ). Após a solidificação do gel de agarose, as alíquotas de PCR foram aplicadas e submetidas à eletroforese a 60 V e 400 mA por 60 minutos.

**Tabela 1.** Primers utilizados nas reações de PCR.

<i>Genótipo</i>	<i>Primers</i>	<i>Fragmento(bp)</i>
<b>POMC-cre</b>	(1) <b>N16 – POMC:</b> TGG CTC AAT GCT CTT CCT GG	WT: 1300 POMC-cre: 700
	(2) <b>N57 – POMC:</b> CAC ATA AGC TGC ATC GTT AAG	
	(3) <b>AAO3 - cre:</b> GAG ATA TCT TTA ACC CTG ATC	
<b><math>\text{STAT3}^{\text{Flox}}</math></b>	(1) <b>19436:</b> TTG ACC TGT GCT CCT ACA AAA A	WT: 187
	(2) <b>19437:</b> CCC TAG ATT AGG CCA GCA CA	$\text{STAT3}^{\text{Flox}}$ : 200

**Tabela 2.** Reações de PCR para genotipagem.

<i>Genótipo</i>	<i>Mix REDEExtract N-AMP PCR</i>	<i>Primer 1 (10mM)</i>	<i>Primer 2 (10mM)</i>	<i>Primer 3 (10mM)</i>	<i>Água</i>	<i>DNA</i>
<b>POMC-cre</b>	5,0 $\mu\text{L}$	0,6 $\mu\text{L}$	1,2 $\mu\text{L}$	0,6 $\mu\text{L}$	0,6 $\mu\text{L}$	2,0 $\mu\text{L}$
<b><math>\text{STAT3}^{\text{Flox}}</math></b>	5,0 $\mu\text{L}$	0,6 $\mu\text{L}$	0,6 $\mu\text{L}$	-	1,8 $\mu\text{L}$	2,0 $\mu\text{L}$

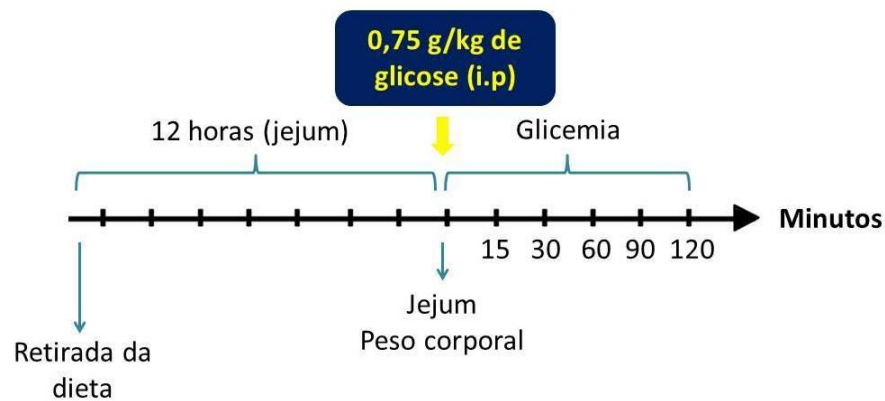


**Tabela 3.** Condições das reações de PCR.

	<i>POMC-cre</i>	<i>STAT3<sup>Flox</sup></i>
<b>Desnaturação</b>	95°C (5 min)	95°C (3 min)
<b>Anelamento e Extensão</b> (x40)	95°C (30 s)	95°C (30 s)
	57°C (30 s)	58°C (40 s)
	72°C (1,5 min)	72°C (40 s)
<b>Extensão</b>	72°C (7 min)	72°C (7 min)
	4°C ( $\infty$ )	4°C ( $\infty$ )

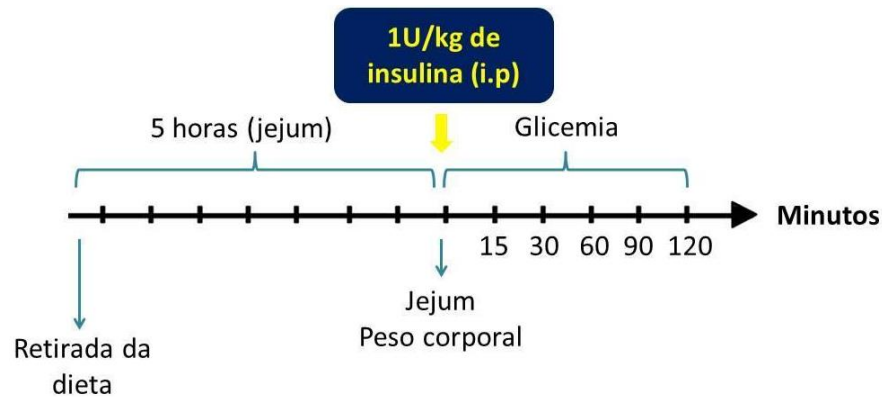
### 3.3.2. Teste de Tolerância à Glicose (GTT)

Após 12 horas de jejum, às 8h, glicose (0,75g/kg, ip) foi administrada em animais com 13 semanas de idade. A glicemia de jejum foi aferida com o auxílio de um glicosímetro (Accu-chek Performa), assim como, 15, 30, 60, 90 e 120 minutos após a administração de glicose através da coleta de uma quantidade mínima de sangue, obtida por pequeno corte da cauda (Figura 7).

**Figura 7.** Teste de tolerância à glicose (GTT).

### 3.3.3. Teste de Tolerância à Insulina (ITT)

Após 5 horas de jejum, iniciado às 8h, insulina (1,0 U/kg, ip) foi administrada em camundongos com 14 semanas de idade. A glicemia de jejum foi aferida com o auxílio de um glicosímetro (Accu-chek Performa), assim como, 15, 30, 60, 90 e 120 minutos após a administração de insulina através da coleta de uma quantidade mínima de sangue, obtida por pequeno corte da cauda (Figura 8).



**Figura 8.** Teste de tolerância à insulina (ITT).

### 3.3.4. Dosagem hormonal

Os camundongos, colocados em jejum por um período de 5 a 6 horas (8h00-14h00), foram expostos a um ambiente com CO<sub>2</sub> por 20-30 segundos e, então, foram decapitados para a coleta do sangue truncanl em eppendorfs de 1,5mL sob gelo. As amostras foram centrifugadas por 20 minutos, 3.000 rotações/minuto, a 4°C, permitindo a obtenção do soro, que foi armazenado a -20°C, até o momento das dosagens hormonais de leptina (Leptin Mouse Kit, Merck, EZML-82K) e insulina (Rat/Mouse insulin Elisa, Merck, EZRMI-13K).

### 3.3.5. Perfusão transcardíaca

Os camundongos foram anestesiados com administração de ketamina (100 mg/kg, ip) e xilazina (10 mg/kg, ip) e foram submetidos à perfusão do SNC após o desaparecimento dos reflexos raqui-medulares. A perfusão transcardíaca se iniciou com a infusão de solução salina 0,9% por 1 minuto, seguida da infusão de formalina 10% durante 5 minutos.

Os encéfalos foram removidos e colocados em tubos *falcon*, para pós-fixação dos tecidos, em solução de formalina contendo 20% de sacarose por 90 minutos a 4°C. Em seguida, os encéfalos foram colocados em *falcons* com solução de tampão salina fosfato (PBS) 0,01M contendo sacarose 30% a 4°C. Após a desidratação adequada do material, o mesmo foi seccionado, utilizando-se um criostato. Então, foi armazenado a -20°C, em solução crioprotetora (Microm, modelo HM 505E), até a realização dos procedimentos de imunofluorescência ou imunoistoquímica.

### 3.3.6. Imunofluorescência de tecido hipotalâmico

Os cortes encefálicos coronais foram obtidos no criostato (Microm, modelo HM 505E) de acordo com o Atlas de Franklin & Paxinos (2008): (ARC, -1.22 até -2.80 mm do bregma) em fatias de 30  $\mu$ m e mantidos em solução crioprotetora a -20°C. Uma em cada três secções foram utilizadas para a análise qualitativa de pSTAT3 no ARC. As secções foram lavadas com tampão salina Tris 1X (pH 7,6) três vezes por 5 minutos. Foi realizado o bloqueio da peroxidase por 10 minutos (90% de metanol e 10% de peróxido de hidrogênio). Os tecidos foram lavados novamente com Tris 1X e foi realizado o bloqueio de ligações inespecíficas por 60 minutos (5% soro normal de cavalo (Vector Laboratories, S-2000); 0,4% Triton X-100 (Sigma Aldrich Biotechnology, X100); Tris 1X). Então, os cortes foram incubados por 48 horas a 4°C com os anticorpos primários (Tabela 4) *rabbit* anti-pSTAT3 [1:500] (Cell Signaling, 9145L) e *sheep* anti- $\alpha$ MSH [1:10.000] (Chemicon International, AB5087). No segundo dia, as secções foram lavadas com Tris 1X e incubadas por 60 minutos com o anticorpo secundário (Tabela 4), alexa fluor 488 *donkey* anti *rabbit* [1:500] (Molecular Probe, A21206) e alexa fluor 594 *donkey* anti *sheep* [1:500] (Molecular Probe, A11016). Os cortes foram lavados com Tris 1X e as lâminas foram montadas com Fluoromont (Southern Biotech, Cat. N°: 0100-01).

**Tabela 4.** Concentração dos anticorpos utilizados na imunofluorescência.

<i>Anticorpo primário</i>	<i>Anticorpo secundário</i>
<i>rabbit</i> anti p-STAT3 [1:500]	alexa fluor 488 <i>donkey</i> anti <i>rabbit</i> [1:500]
<i>sheep</i> anti $\alpha$ MSH [1:10.000]	alexa fluor 594 <i>donkey</i> anti <i>sheep</i> [1:500]

### 3.3.7. Processamento fotomicrográfico de imunofluorescência

As imagens de imunofluorescência foram obtidas utilizando o microscópio óptico (DM4500 B, Leica), equipado com objetivas de 20x e 40x, associado a um sistema para análise de imagens (LAS V3.8, Leica). As secções contendo o ARC foram analisadas por meio do software *ImageJ*.

### 3.4. Análise Estatística

Os dados obtidos foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) e analisados através do Software Graphpad Prism versão 8.02. Foi utilizado o teste Mann-Whitney para comparar dois grupos. As análises foram feitas pela análise de variância (ANOVA) de uma ou duas vias, seguida do pós-teste de Tukey ou Sidak. Também foi utilizado o Teste de Friedman, seguido do pós-teste de Dunn. Foi adotado o nível de significância ( $\alpha$ ) de 5%.

## **Resultados**

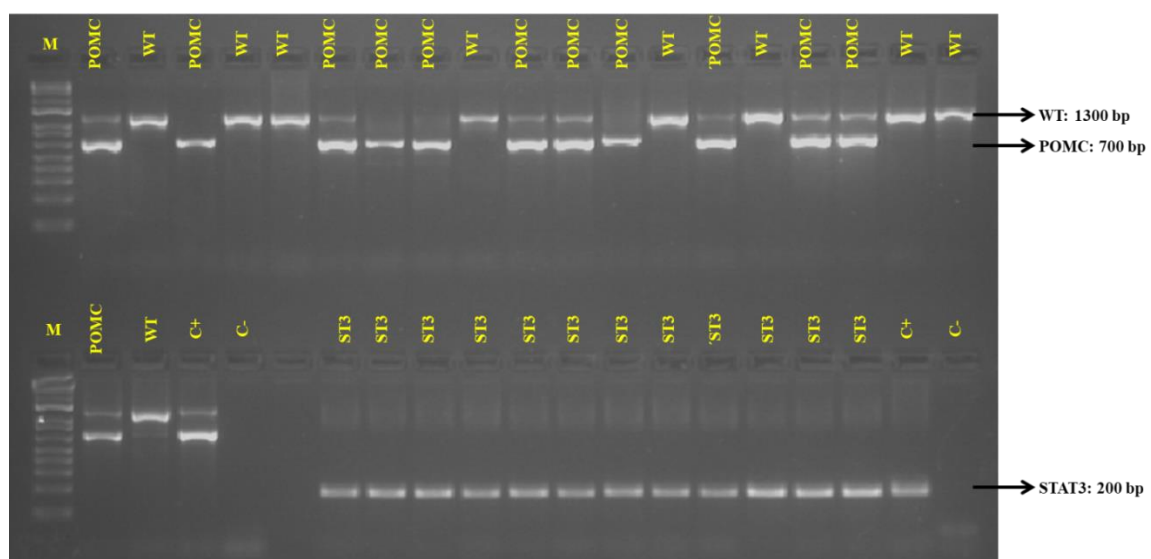
---

---

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Genotipagem de camundongos com deleção específica de STAT3 em neurônios POMC do ARC.

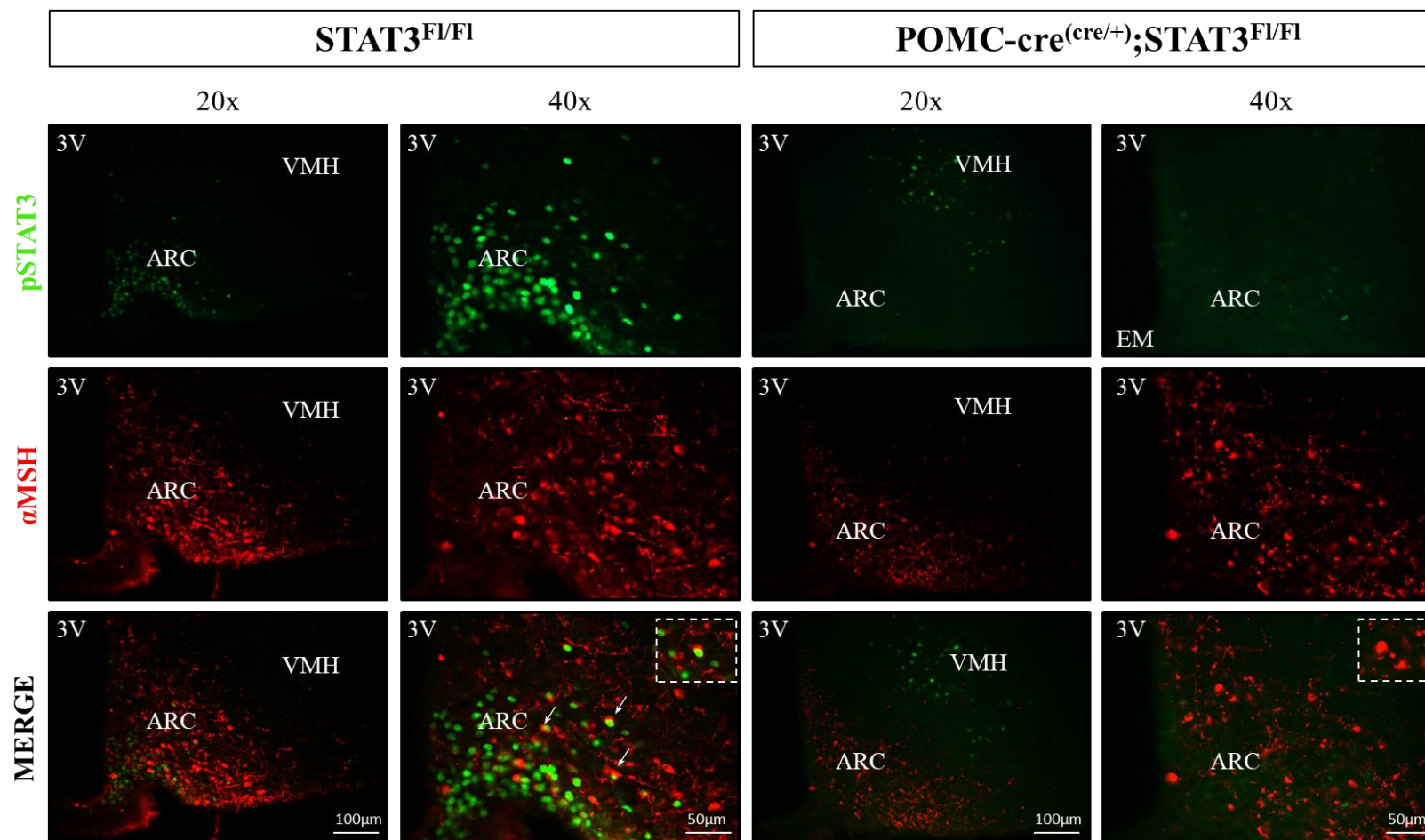
O cruzamento de camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>F1/F1</sup> e STAT3<sup>F1/F1</sup> resulta em filhotes desses mesmos genótipos. Alguns dos animais experimentais estão representados na figura 9, onde observamos 12 animais de genótipo POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>, 8 animais selvagens (WT) para POMC e 12 animais de genótipo STAT3<sup>F1/F1</sup>.



**Figura 9.** Eletroforese em gel de agarose (3%) após PCR para genotipagem de POMC-cre e STAT3<sup>F1/F1</sup>. M: Marcador. C+: Controle positivo correspondente a uma amostra de genótipo conhecido. C-: Controle negativo água (e não material genético). ST3: STAT3. WT: Animais selvagens para POMC. À direita está identificado o tamanho do fragmento de DNA (em pares de base, bp).

### 4.2. Validação da deleção de STAT3 em neurônios POMC após estímulo com leptina.

A deleção de STAT3 em neurônios POMC foi comprovada por meio da imunohistoquímica após o estímulo com leptina. Na figura 10, podemos observar que o estímulo com leptina no animal STAT3<sup>F1/F1</sup> promoveu a fosforilação de STAT3 no ARC e em regiões adjacentes, como o VMH. Por outro lado, em camundongos Pomc-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>F1/F1</sup>, como esperado, não houve fosforilação de STAT3 no ARC, embora a ativação de STAT3 no VMH tenha sido mantida nesse animal, o que comprova a especificidade da deleção.



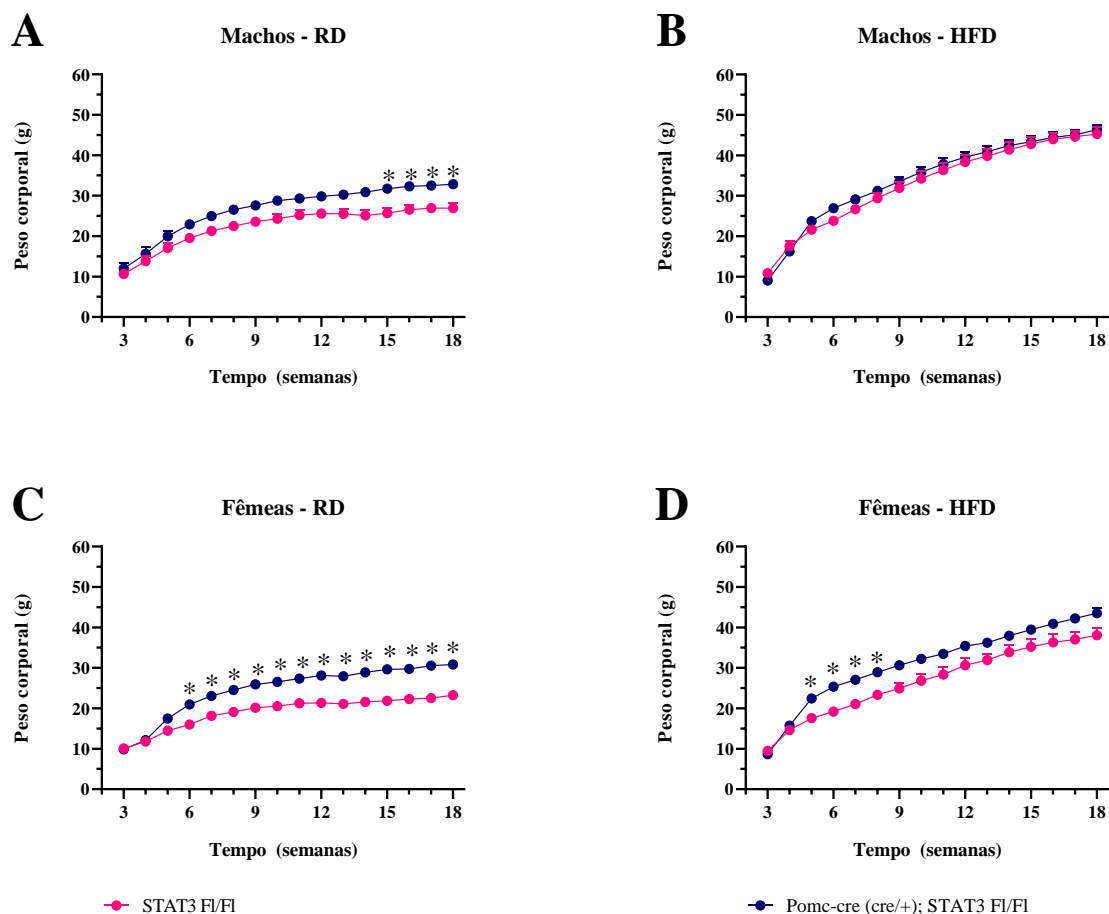
**Figura 10.** Imunofluorescência para pSTAT3 (verde) e  $\alpha$ MSH (vermelho) em camundongos  $STAT3^{F1/F1}$  e  $Pomc\text{-}cre^{(cre/+)}; STAT3^{F1/F1}$  perfundidos 45 minutos após estímulo com leptina (i.p., 0,5mg/kg) submetidos ao jejum de 2 horas. 3V - Terceiro ventrículo; VMH – Núcleo ventromedial do hipotálamo; ARC – núcleo arqueado do hipotálamo. As setas indicam co-localização de pSTAT3 e  $\alpha$ MSH. Escalas: 100  $\mu$ m (aumento de 20x) e 50  $\mu$ m (aumento de 40x).

#### 4.3. Avaliação do peso corporal e da ingestão semanal de camundongos machos e fêmeas POMC-cre(cre/+);STAT3<sup>F1/F1</sup> e STAT3<sup>F1/F1</sup>.

Os camundongos machos com deleção de STAT3 em neurônios POMC (POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>F1/F1</sup>), alimentados com RD, apresentaram maior ganho de peso corporal a partir da 15<sup>a</sup> semana de idade em relação aos controles (STAT3<sup>F1/F1</sup>) ( $F_{15,210}=3,978$ ;  $p<0,0001$ ) (Figura 11.A). A administração de HFD elevou o ganho de peso semanal dos camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>F1/F1</sup> e STAT3<sup>F1/F1</sup>, embora não tenha sido diferente entre os genótipos (Figuras 11.A,B).

As fêmeas POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>F1/F1</sup>, que receberam RD, apresentaram maior ganho de peso a partir da 6<sup>a</sup> semana de vida, em relação às camundongas STAT3<sup>F1/F1</sup> (Figura 11.C). As fêmeas POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>F1/F1</sup>, alimentadas com HFD também apresentaram maior peso corporal entre a 5<sup>a</sup> e a 8<sup>a</sup> semana de idade, em relação as suas controles (STAT3<sup>F1/F1</sup>) ( $F_{15,180}=5,520$ ;  $p<0,0001$ ) (Figura 11.D).

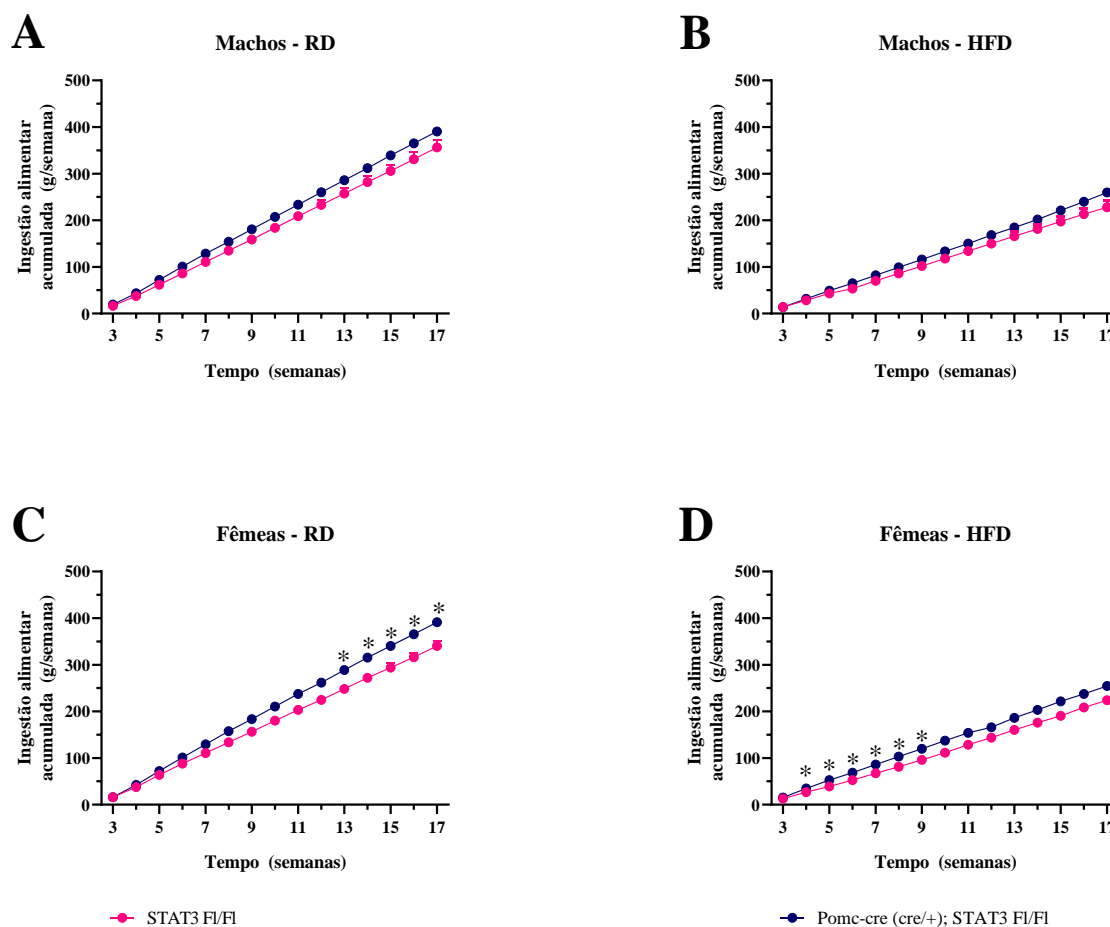




**Figura 11.** Avaliação semanal do corporal de camundongos  $Pomc\text{-}cre^{(cre/+)}; STAT3^{Fl/Fl}$  e  $STAT3^{Fl/Fl}$  machos ( $n=7-8$ , painéis A e B) e fêmeas ( $n=7$ , painéis C e D) tratados com dieta regular (RD) ou dieta hiperlipídica (HFD) (Apêndices A-D). Valores expressos como média  $\pm$  EPM. Dados analisados pelo teste ANOVA de duas vias, seguido do pós-teste de Sidak. \*  $p < 0,05$   $Pomc\text{-}cre^{(cre/+)}; STAT3^{Fl/Fl}$  vs  $STAT3^{Fl/Fl}$ .

Nos machos, não houve efeito do genótipo na ingestão alimentar dos camundongos alimentados com RD ( $F_{1,14}=6,253$ ;  $p=0,0254$ ) (Figura 12.A) ou HFD ( $F_{1,13}=3,281$ ;  $p=0,0932$ ) (Figura 12.B).

Diferentemente dos machos, as fêmeas  $Pomc\text{-}cre^{(cre/+)}; STAT3^{Fl/Fl}$ , que receberam RD apresentaram um aumento na ingestão alimentar acumulada a partir da 13<sup>a</sup> semana de idade, em relação às  $STAT3^{Fl/Fl}$  ( $F_{1,14}=10,54$ ;  $p=0,0059$ ) (Figura 12.C). Essa diferença também pôde ser observada no grupo que recebeu HFD, no entanto, a ingestão alimentar acumulada das fêmeas  $Pomc\text{-}cre^{(cre/+)}; STAT3^{Fl/Fl}$  foi maior entre a 4<sup>a</sup> e 8<sup>a</sup> semana em relação ao seu grupo controle ( $F_{1,12}=17,08$ ;  $p=0,0014$ ) (Figuras 12.D).



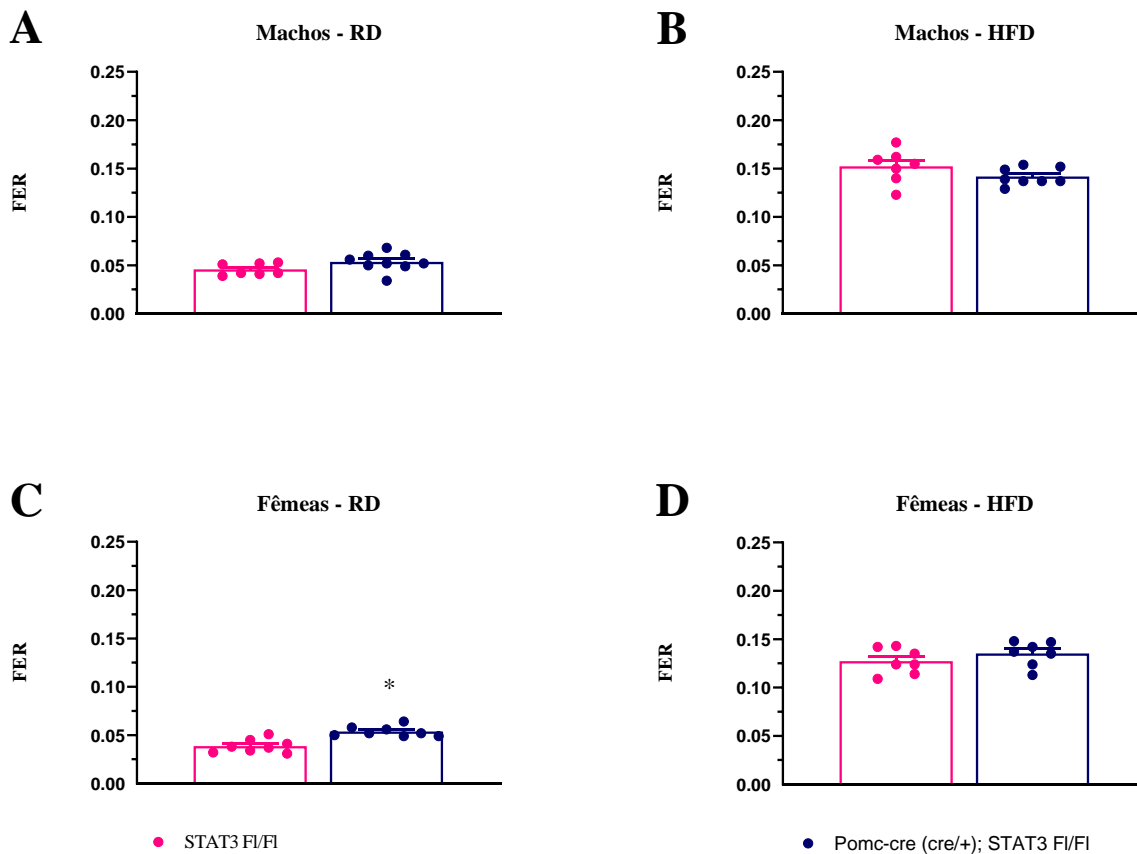
**Figura 12.** Ingestão alimentar acumulada, em gramas (g), de camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>F1/F1</sup> e STAT3<sup>F1/F1</sup> machos (n=7-9, painéis A-B) e fêmeas (n=7-8, painéis C-D) tratados com dieta regular (RD) ou hiperlipídica (HFD) (Apêndices E-H). Valores expressos como média ± EPM. Dados analisados pelo teste ANOVA de duas vias, seguido do pós-teste de Sidak. \* p<0,05 POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>F1/F1</sup> vs STAT3<sup>F1/F1</sup>.

Avaliamos também a taxa de eficiência alimentar (FER) de camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>F1/F1</sup> e STAT3<sup>F1/F1</sup> alimentados com RD ou HFD. A FER é definida pela razão entre o ganho de peso durante o período avaliado (3 a 18 semanas) e a ingestão alimentar no mesmo intervalo de tempo, conforme a equação abaixo:

$$FER = \frac{\text{ganho de peso}}{\text{ingestão alimentar}} = \frac{P_{18} - P_3}{R}$$

onde,  $P_{18}$  = peso corporal na 18ª semana,  $P_3$  = peso corporal na 3ª semana,  $R$ = ingestão alimentar acumulada (3 a 18ª semana).

Os machos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD (p=0,1071) ou HFD (p=0,0929) não apresentaram diferença na média da FER (Figuras 13.A,B). Por outro lado, as fêmeas POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> que receberam RD, apresentam maior FER que o grupo controle (p=0,0009) (Figura 13.C). No entanto, não houve diferença na FER entre as fêmeas alimentadas com HFD (p=0,3007) (Figura 13.D).



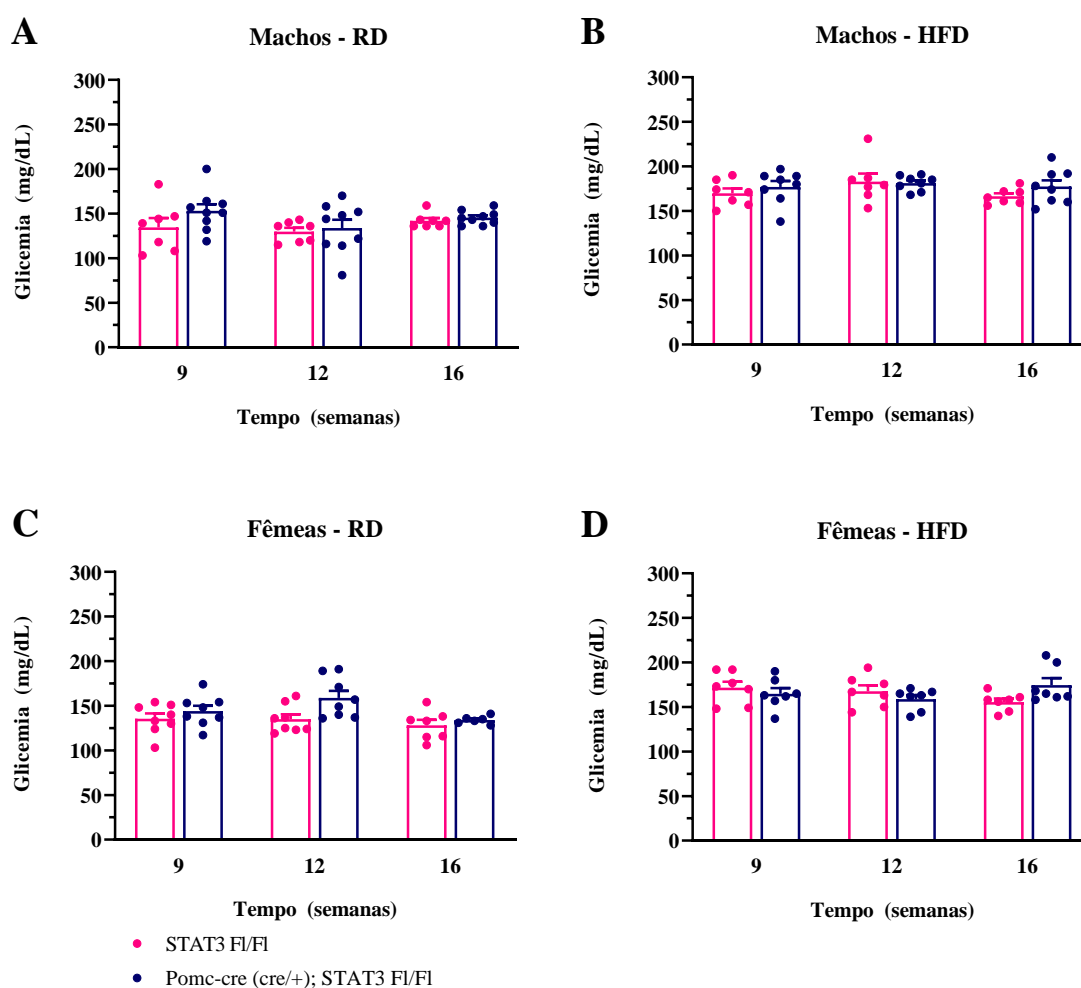
**Figura 13.** Média da taxa de eficiência alimentar (FER) de camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup> machos (n=7-9, painéis A-B) e fêmeas (n=7-8, painéis C-D) tratados com dieta regular (RD) ou hiperlipídica (HFD) (Apêndice I). Valores expressos como média ± EPM. Dados analisados pelo teste Mann-Whitney. \* p<0,05 POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> vs STAT3<sup>Fl/Fl</sup>.

#### 4.4. Avaliação da glicemia de camundongos machos e fêmeas POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup>.

Nos machos alimentados com RD, a glicemia não se alterou em relação à idade dos animais ( $F_{2,16}=1,754$ ; p=0,2048), assim como em relação ao genótipo ( $F_{1,8}=2,383$ ; p=0,1613)

(Figura 14.A). Assim como não houve efeito da idade ( $F_{2,14}=1,609$ ;  $p=0,2351$ ) ou do genótipo ( $F_{1,7}=1,214$ ;  $p=0,3070$ ) nos machos que receberam HFD (Figura 14.B).

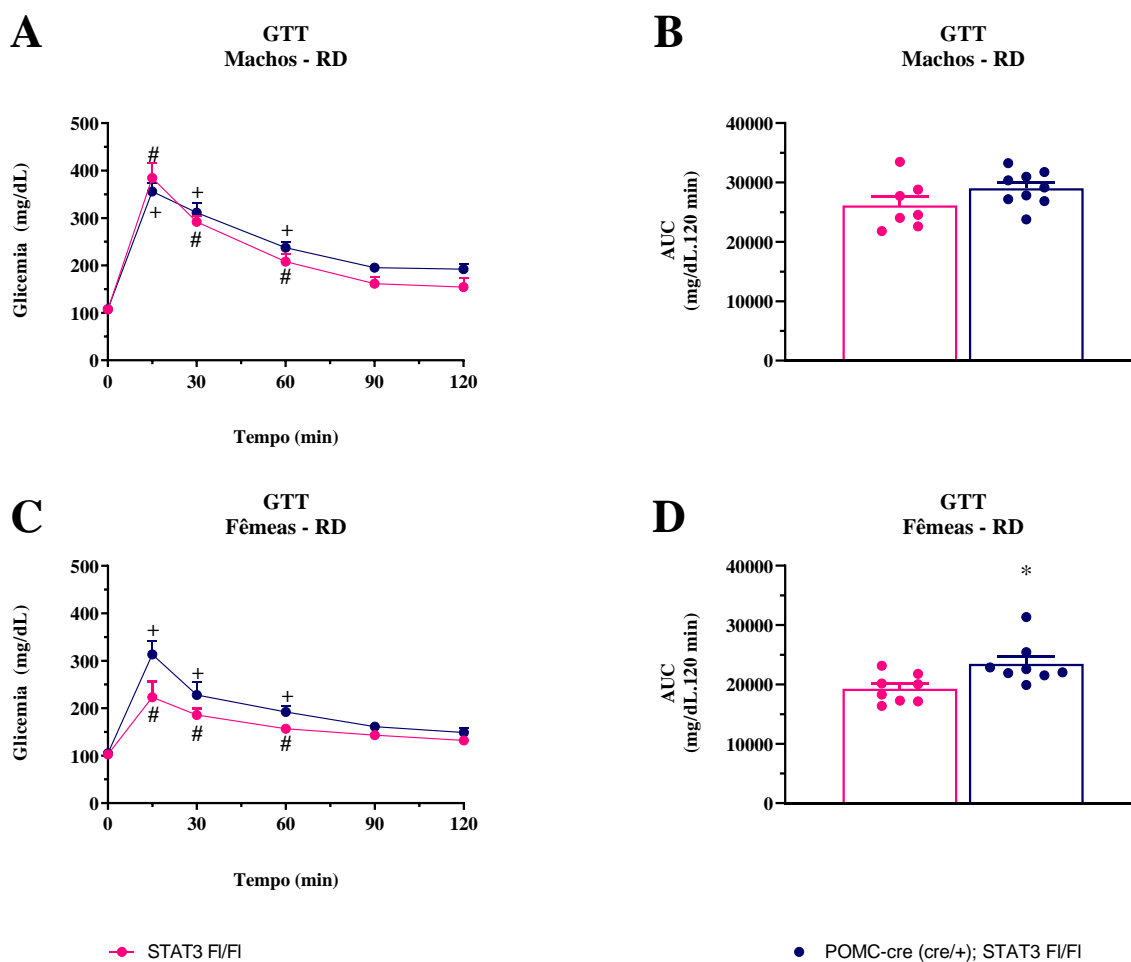
Da mesma maneira que em machos, as fêmeas alimentadas com RD, o genótipo e a idade dos animais não contribuíram para a diferença da glicemia ( $F_{2,11}=1,475$ ;  $p=0,2706$ ) (Figura 14.C), assim como nas camundongas que receberam HFD ( $F_{2,12}=3,045$ ;  $p=0,0852$ ) (Figura 14.D).



**Figura 14.** Glicemia (mg/dL) de camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>F1/F1</sup> e STAT3<sup>F1/F1</sup> machos (n=7-9, painéis A-B) e fêmeas (n=7-8, painéis C-D) tratados com dieta regular (RD) ou hiperlipídica (HFD) com 9, 12 e 16 semanas de idade (Apêndice J). Valores expressos como média  $\pm$  EPM. Dados analisados pelo teste ANOVA de duas vias, seguido do pós-teste de Tukey. \*  $p < 0,05$  POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>F1/F1</sup> vs STAT3<sup>F1/F1</sup>.

#### 4.5. Avaliação do GTT e do ITT de camundongos machos e fêmeas POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>F1/F1</sup> e STAT3<sup>F1/F1</sup>.

A administração de glicose promoveu o aumento da glicemia entre 15 e 60 minutos em camundongos machos e fêmeas POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>F1/F1</sup> e STAT3<sup>F1/F1</sup> tratados com RD  $p < 0,0001$  (Figura 15.A e C). Não houve diferença na AUC do GTT entre os genótipos de machos ( $p = 0,1738$ ) (Figura 15.B). Por outro lado, a AUC do GTT das fêmeas POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>F1/F1</sup> foi maior do que a das STAT3<sup>F1/F1</sup> ( $p = 0,0207$ ) (Figura 15.D), indicando que a deleção de STAT3 em neurônios POMC promove tolerância reduzida à glicose de forma sexo-específica.

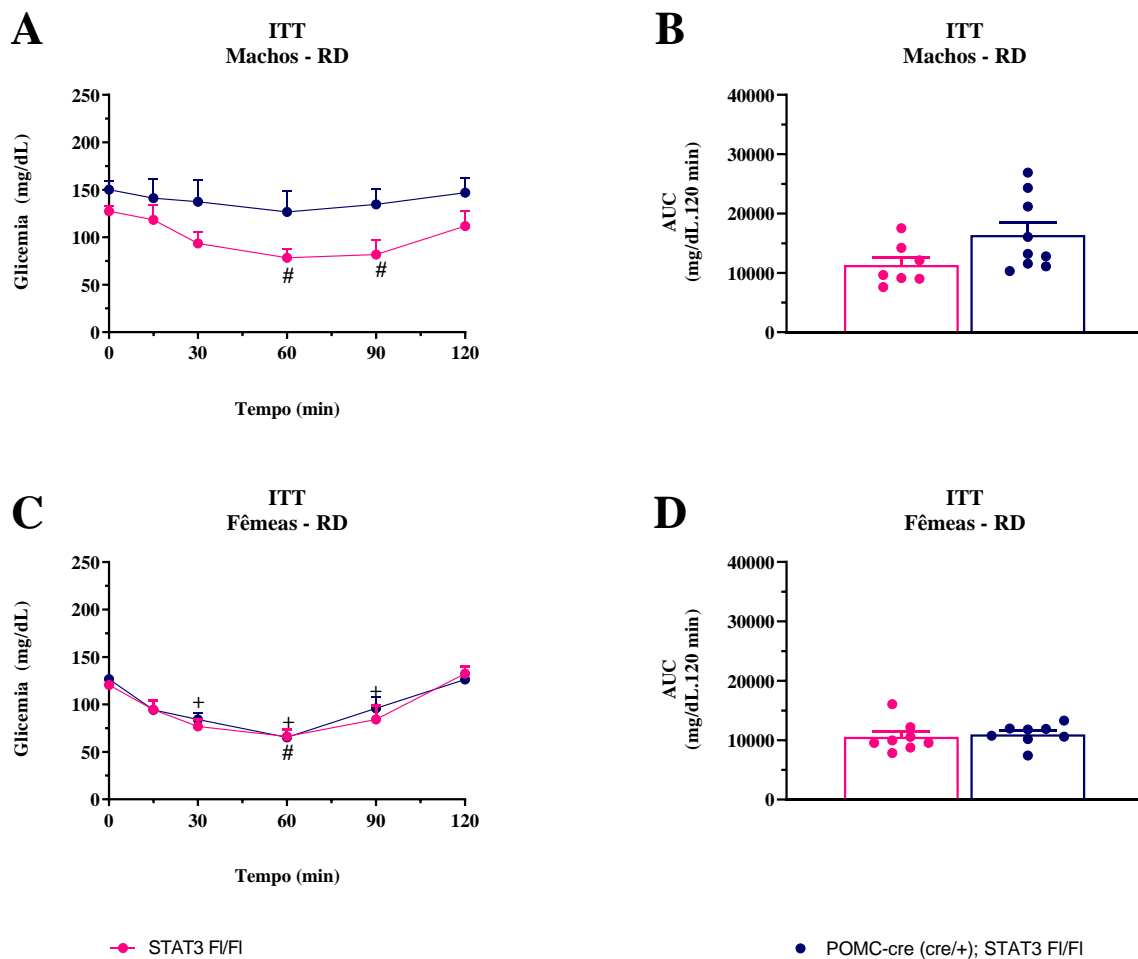


**Figura 15.** Curva de resposta glicêmica durante o teste de tolerância à glicose (GTT) e área sobre a curva (AUC, mg/dL.min) do GTT de camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>F1/F1</sup> e STAT3<sup>F1/F1</sup> machos ( $n = 7-9$ , painéis A-B) e fêmeas ( $n = 7-8$ , painéis C-D) tratados com dieta regular (RD) com 13 semanas de idade, 12 horas de jejum e administração intraperitoneal de 0,75 g/kg de glicose (Apêndice K). Valores expressos como média  $\pm$  EPM. Dados analisados pelo teste Mann-Whitney,

e Teste de Friedman, seguido do pós-teste de Dunn. \*  $p < 0,05$  POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> vs STAT3<sup>Fl/Fl</sup>. #  $p < 0,05$  POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> vs t=0 min do mesmo genótipo. #  $p < 0,05$  STAT3<sup>Fl/Fl</sup> vs t=0 min do mesmo genótipo.

Em machos tratados com RD, a administração de insulina diminuiu a glicemia de camundongos STAT3<sup>Fl/Fl</sup> ( $p=0,0044$ ) entre 60 e 90 minutos em relação à glicemia basal (Figura 16.A). Não houve diferença significativa da glicemia ao longo do ITT nos camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> ( $p=0,1897$ ). A AUC da glicemia durante o ITT de machos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> em relação ao seu respectivo não foi diferente ( $p=0,0712$ ) (Figuras 16.B).

Nas fêmeas tratadas com RD, a administração de insulina promoveu a diminuição da glicemia após 60 minutos em camundongas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e em camundongas POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> de 30 a 90 minutos em relação à glicemia basal ( $p < 0,0001$ ) (Figura 16.C). Não houve diferença na AUC do ITT entre as fêmeas de ambos os grupos ( $p=0,3282$ ) (Figura 16.D).



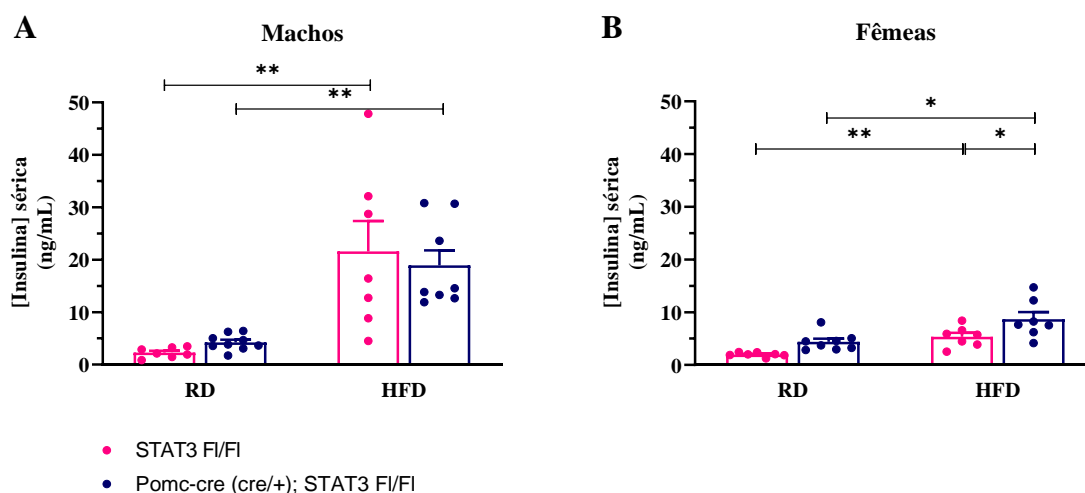
**Figura 16.** Curva de resposta glicêmica durante o teste de tolerância à insulina (ITT) e área sobre a curva (AUC, mg/dL.min) do ITT de camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>F1/F1</sup> e STAT3<sup>F1/F1</sup> machos (n=9-7, painéis A-B) e fêmeas (n=7-8, painéis C-D) tratados com dieta regular (RD) com 14 semanas de idade, 5 horas de jejum e administração intraperitoneal de 1,0 U/kg de insulina (Apêndice L). Valores expressos como média ± EPM. Dados analisados pelo teste Mann-Whitney, e Teste de Friedman, seguido do pós-teste de Dunn. \* p<0,05 POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>F1/F1</sup> vs STAT3<sup>F1/F1</sup>. # p<0,05 POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>F1/F1</sup> vs t=0 min do mesmo genótipo. # p<0,05 STAT3<sup>F1/F1</sup> vs t=0 min do mesmo genótipo.

#### 4.6. Efeito da deleção de STAT3 em neurônios POMC na concentração sérica de insulina de camundongos alimentados com RD ou HFD.

Nos machos, a concentração sérica de insulina aumentou significativamente no grupo tratado com HFD em relação ao que recebeu RD ( $F_{1,27}=31,43$ ;  $p<0,0001$ ) tanto em camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>F1/F1</sup> como STAT3<sup>F1/F1</sup> ( $p<0,0001$ ). Não houve diferença significativa na concentração sérica de insulina entre os genótipos nos machos

( $F_{1,27}=0,015$ ;  $p=0,9044$ ), sob tratamento com RD ( $p=0,9669$ ) ou HFD ( $p=0,9254$ ) (Figura 17.A)

Nas fêmeas, assim como nos machos, a dieta contribuiu para a diferença da concentração sérica de insulina ( $F_{1,25}=21,82$ ;  $p<0,0001$ ), de modo que as camundongas  $STAT3^{Fl/Fl}$  alimentadas com HFD apresentaram maior concentração de insulina do que aquelas que receberam RD ( $p=0,0394$ ), assim como nas fêmeas  $POMC-cre^{(cre/+)}; STAT3^{Fl/Fl}$  ( $p=0,0047$ ). Não houve efeito do genótipo na concentração sérica de insulina de camundongas  $POMC-cre^{(cre/+)}; STAT3^{Fl/Fl}$  alimentadas com RD em relação às  $STAT3^{Fl/Fl}$  ( $p=0,1826$ ) enquanto que as fêmeas  $POMC-cre^{(cre/+)}; STAT3^{Fl/Fl}$  tratadas com HFD apresentaram maior concentração sérica de insulina do que as  $STAT3^{Fl/Fl}$  ( $p=0,0440$ ) (Figura 17.B).



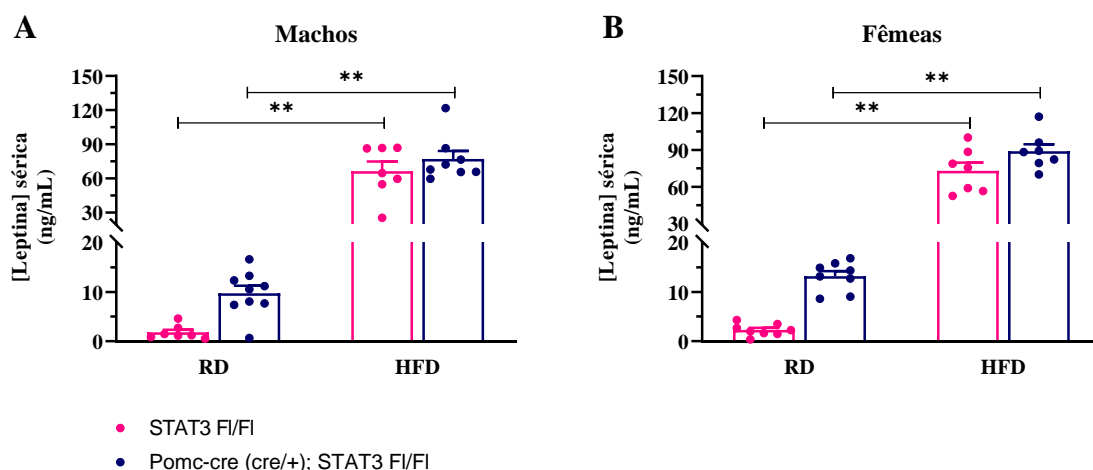
**Figura 17.** Concentração sérica de insulina em camundongos  $POMC-cre^{(cre/+)}; STAT3^{Fl/Fl}$  e  $STAT3^{Fl/Fl}$  machos ( $n=7-9$ , A) e fêmeas ( $n=7-8$ , B) tratados com dieta regular (RD) ou hiperlipídica (HFD) com 18 a 23 semanas de idade (Apêndice M). Valores expressos como média  $\pm$  EPM. Dados analisados pelo teste ANOVA de duas vias, seguido do pós-teste de Tukey. \*\* $p<0,01$   $POMC-cre^{(cre/+)}; STAT3^{Fl/Fl}$  vs  $STAT3^{Fl/Fl}$ .

#### 4.7. Efeito da deleção de STAT3 em neurônios POMC na concentração sérica de leptina de camundongos alimentados com RD ou HFD.



Nos machos, a concentração sérica de leptina aumentou significativamente no grupo tratado com HFD em relação ao que recebeu RD ( $F_{1,27}=148,6$ ;  $p<0,0001$ ), tanto em camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> como STAT3<sup>Fl/Fl</sup> ( $p<0,0001$ ). O genótipo dos animais não apresentou efeito na concentração de leptina ( $F_{1,27}=2,983$ ;  $p=0,0955$ ) (Figura 18.A).

Nas fêmeas, tanto a dieta ( $F_{1,26}=316,5$ ;  $p<0,0001$ ) quanto o genótipo ( $F_{1,26}=10,60$ ;  $p=0,0031$ ) apresentaram efeito nas concentrações séricas de leptina. As camundongas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentadas com HFD apresentam maior concentração sérica de leptina do que aquelas que receberam RD, assim como nas fêmeas POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> ( $p<0,0001$ ) (Figura 18.B).



**Figura 18.** Concentração sérica de leptina em camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup> machos (n=7-9, A) e fêmeas (n=7-8, B) tratados com dieta regular (RD) ou hiperlipídica (HFD) com 18 a 23 semanas de idade (Apêndice N). Valores expressos como média  $\pm$  EPM. Dados analisados pelo teste ANOVA de duas vias, seguido do pós-teste de Tukey. \*\* $p<0,01$  POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> vs STAT3<sup>Fl/Fl</sup>.

#### 4.8. Efeito da deleção de STAT3 em neurônios POMC no peso do TABr em camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup>.

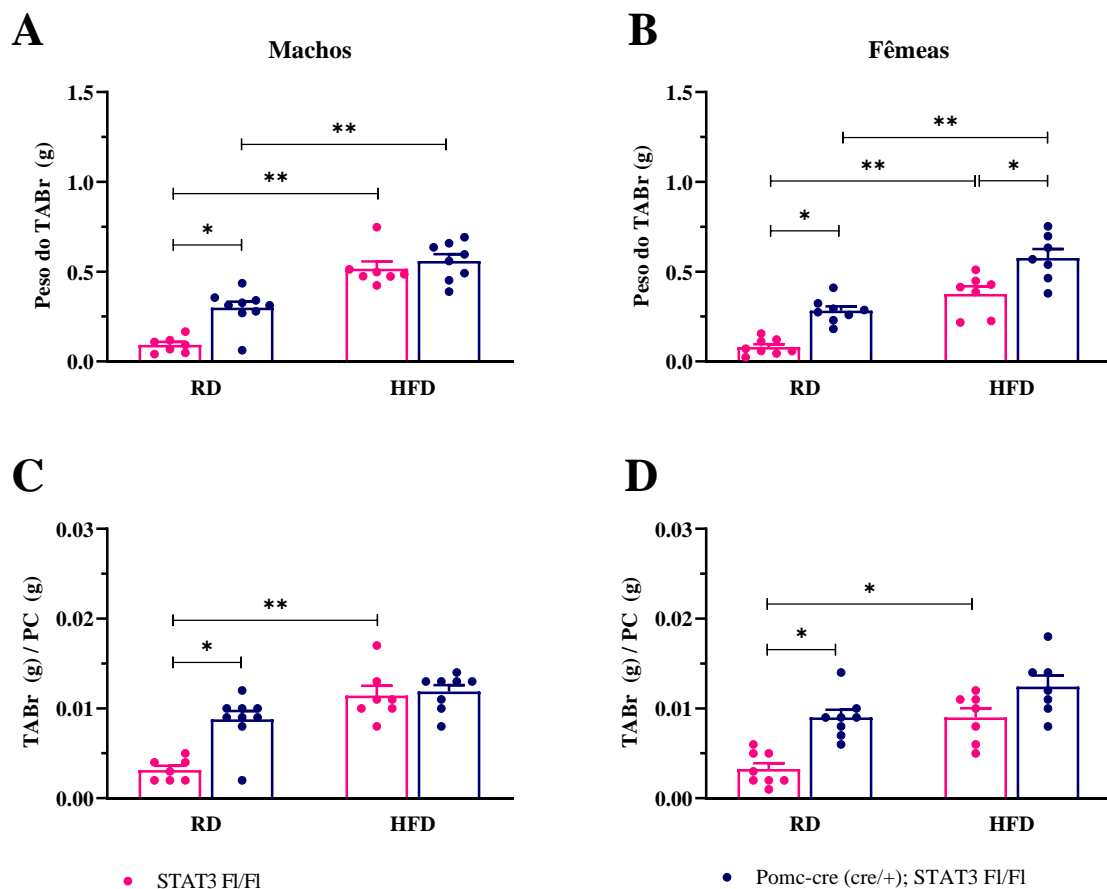
Nos machos o peso do TABr aumentou tanto em função da dieta ( $F_{1,27}=100,8$ ;  $p<0,0001$ ) como do genótipo ( $F_{1,27}=13,53$ ;  $p=0,0010$ ). O efeito do genótipo pôde ser observado entre os camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup> ( $p=0,0009$ )

enquanto que o efeito da dieta foi observado tanto nos machos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> quanto no grupo controle ( $p < 0,0001$ ) (Figura 19.A).

Nas fêmeas, o peso absoluto do TABr também foi influenciado pela dieta ( $F_{1,26}=75,74$ ;  $p < 0,0001$ ) como pelo genótipo ( $F_{1,26}=35,35$ ;  $p < 0,0001$ ). O TABr das fêmeas POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> foi maior do que o das STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentadas com RD ( $p=0,0010$ ) ou HFD ( $p=0,0022$ ), demonstrando a importância do genótipo na determinação do peso do TABr. O efeito da dieta pôde ser observado tanto nas fêmeas POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> como no grupo controle ( $p < 0,0001$ ), uma vez que a HFD promoveu o aumento do TABr em relação aos respectivos grupos que receberam RD (Figura 19.B).

Ao corrigir o peso do TABr pelo peso corporal no dia do experimento, observou-se que o efeito do genótipo ( $F_{1,27}=12,84$ ;  $p=0,0013$ ) se manteve nos camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup>, e seu respectivo controle, alimentados com RD ( $p=0,0003$ ). Já a contribuição da HFD ( $F_{1,27}=44,99$ ;  $p < 0,0001$ ) para o aumento do conteúdo de tecido adiposo, corrigido pelo peso corporal, foi observada apenas nos camundongos STAT3<sup>Fl/Fl</sup> ( $p < 0,0001$ ) (Figura 19.C).

Assim como nos machos, a dieta e o genótipo contribuíram para o aumento do TABr corrigido pelo peso corporal ( $F_{1,26}=23,88$ ;  $p < 0,0001$ ) nas fêmeas. As camundongas POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup>, que receberam RD, apresentam maior conteúdo deste tecido em relação ao grupo controle ( $p=0,0007$ ) e, apenas as fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> tratadas com HFD apresentam maior conteúdo de TABr, corrigido pelo peso corporal, em relação às que foram alimentadas com RD ( $p=0,0011$ ) (Figura 19.D).



**Figura 19.** Peso absoluto do tecido adiposo branco retroperitoneal (TABr) (A-B) e peso do TABr corrigido pelo peso corporal (PC) (C-D) de camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup> machos (n=7-9, painéis da esquerda) e fêmeas (n=7-8, painéis da direita) tratados com dieta regular (RD) ou hiperlipídica (HFD) com 18 a 20 semanas de idade (Apêndices O e P). Valores expressos como média ± EPM. Dados analisados pelo teste ANOVA de duas vias, seguido do pós-teste de Tukey. \* p<0,05, \*\*p<0,01 POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> vs STAT3<sup>Fl/Fl</sup>.

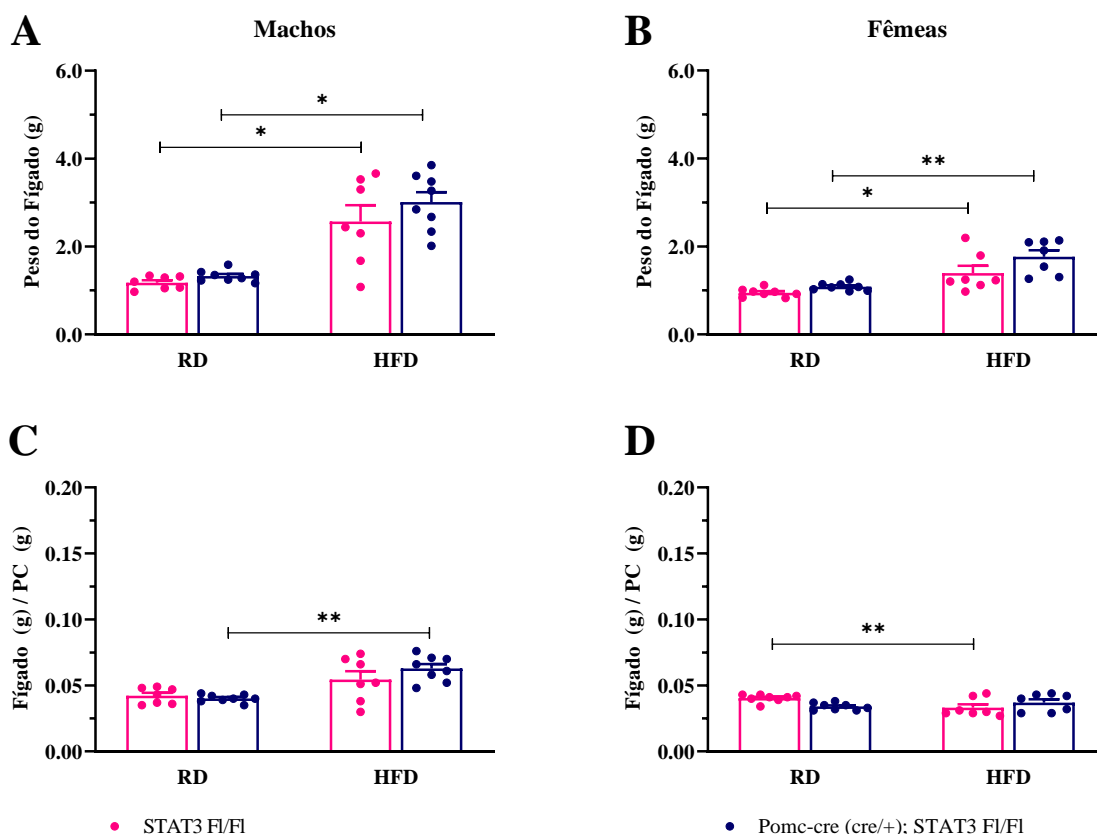
#### 4.9. Efeito da deleção de STAT3 em neurônios POMC no peso do fígado de camundongos.

A dieta ( $F_{1,26}=51,40$ ;  $p<0,0001$ ) contribuiu para o aumento do peso absoluto do fígado de camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com HFD em relação aos animais do mesmo genótipo que receberam RD ( $p<0,0001$ ), assim como dos animais STAT3<sup>Fl/Fl</sup> ( $p=0,0008$ ) (Figura 20.A).

Nas fêmeas, assim como nos machos, foi possível observar o a contribuição da dieta ( $F_{1,26}=28,63$ ;  $p<0,0001$ ). O aumento considerável do peso deste órgão ocorreu nas fêmeas

POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentadas com HFD em relação às que receberam RD ( $p=0,0006$ ), assim como nas camundongas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> ( $p=0,0281$ ). As camundongas POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> que receberam RD não apresentaram diferença no peso do fígado em relação às fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> tratadas com a mesma dieta ( $p=0,7794$ ). Também não houve efeito do genótipo nas fêmeas alimentadas com HFD ( $p=0,01023$ ) (Figura 20.B).

A dieta contribuiu para o aumento do peso do fígado corrigido pelo peso corporal em machos ( $F_{1,26}=22,85$ ;  $p<0,0001$ ) do grupo POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> que receberam HFD em relação ao respectivo grupo alimentado com RD ( $p=0,0006$ ) (Figura 20.C). Nas fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> tratadas com HFD, o peso do fígado corrigido pelo peso corporal diminuiu em relação às camundongas, de mesmo genótipo, que receberam RD ( $p=0,0478$ ) (Figura 20.D).



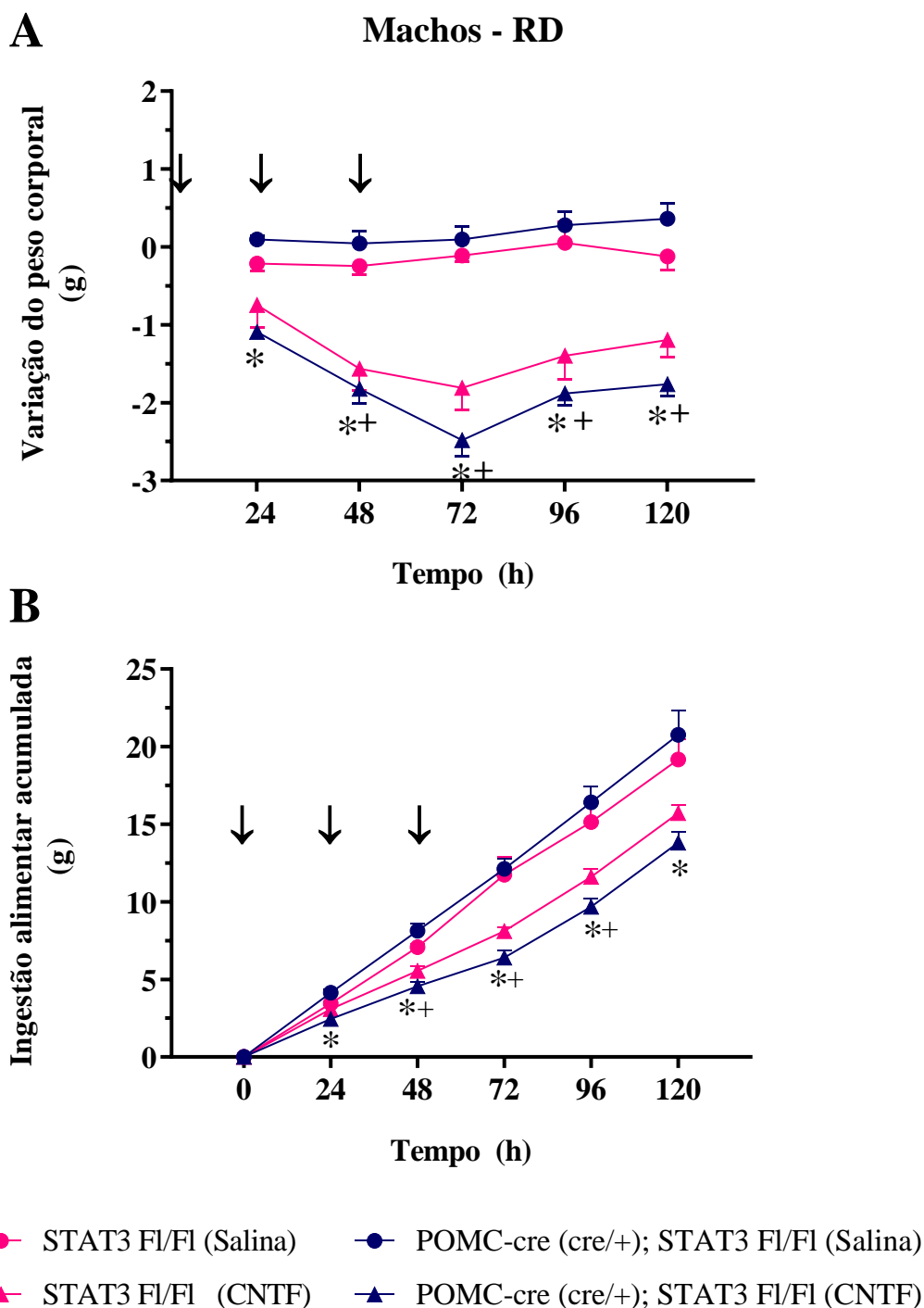
**Figura 20.** Peso absoluto do fígado (A-B) e peso do fígado corrigido pelo peso corporal (PC) no dia do experimento (C-D) de camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup> machos ( $n=7-9$ , painéis da esquerda) e fêmeas ( $n=7-8$ , painéis da direita) tratados com dieta regular (RD) ou hiperlipídica (HFD) com 18 a 23 semanas de idade (Apêndices Q e R). Valores expressos como

média  $\pm$  EPM. Dados analisados pelo teste ANOVA de duas vias, seguido do pós-teste de Tukey. \*  $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> vs STAT3<sup>Fl/Fl</sup>.

#### **4.10. Efeito da administração de CNTF no peso corporal e na ingestão alimentar de camundongos machos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.**

A administração do CNTF promoveu a diminuição do peso corporal de camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup> machos alimentados com RD em relação aos respectivos grupos controle, tratados com salina ( $p < 0,0001$ ) (Figura 21.A). Nos camundongos STAT3<sup>Fl/Fl</sup>, essa resposta foi observada após 48 horas da primeira administração de CNTF e se manteve por todo o período avaliado, enquanto que nos machos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>Fl/Fl</sup>, o efeito do CNTF pôde ser observado 24 horas após a primeira injeção.

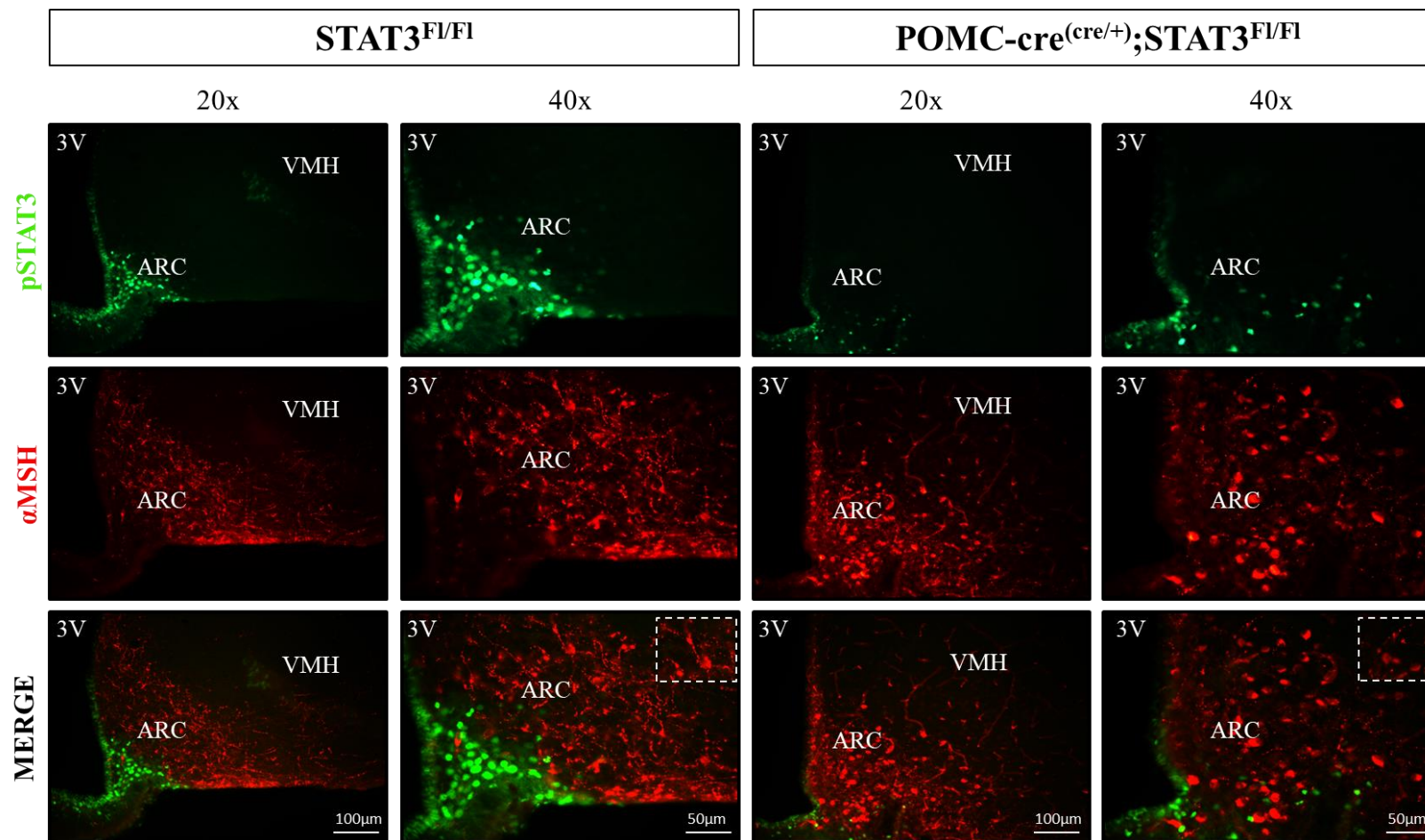
Ao avaliar a ingestão alimentar cumulativa (Figura 21.B), pôde-se observar que, o tratamento com CNTF diminuiu a ingestão alimentar nos machos STAT3<sup>Fl/Fl</sup> (tempos: 48 a 96 horas) e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>Fl/Fl</sup> (tempos: 24 a 120 horas) em relação ao respectivo grupo tratado com salina ( $p < 0,05$ ). Não houve diferença na ingestão alimentar entre os genótipos dos animais tratados com salina ou CNTF.



**Figura 21.** Variação do peso corporal (A) e ingestão alimentar acumulada, em gramas (g) (B), de camundongos machos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup>, tratados com salina (n=9-7) ou CNTF (n=8-6, 0,1ug/g, 3 doses, 1 vez/dia, via intraperitoneal), sob dieta regular (RD). As setas indicam o tratamento com salina ou CNTF. Valores expressos como média ± EPM (Apêndices S e T). Dados analisados pelo teste ANOVA de duas vias, seguido do pós-teste de Tukey. \* p<0,05 POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> salina vs CNTF; + p<0,05 STAT3<sup>Fl/Fl</sup> salina vs CNTF.

#### **4.11. Avaliação da fosforilação de STAT3 em neurônios POMC após estímulo com CNTF em camundongos machos alimentados com RD**

O tratamento com CNTF induziu a fosforilação de STAT3 no ARC e na EM de camundongos  $STAT3^{Fl/Fl}$ . Em camundongo  $POMC-cre^{(cre/+)};STAT3^{Fl/Fl}$ , por outro lado, o estímulo com CNTF promoveu a fosforilação de STAT3 em células da camada ependimária da EM, mas não do ARC (Figuras 22).



**Figura 22.** Imunofluorescência para pSTAT3 (verde) e αMSH (vermelho) após estímulo com CNTF (0,1 μg/g, 3 dias, ip) em camundongos  $POMC-cre^{(cre/+)};STAT3^{F1/F1}$  e  $STAT3^{F1/F1}$  machos (6-8 semanas), alimentados com RD, perfundidos 45 minutos após a administração da última dose de CNTF. 3V - Terceiro ventrículo; VMH – Núcleo ventromedial do hipotálamo; ARC – núcleo arqueado do hipotálamo. Escalas: 100 μm (aumento de 20x) e 50 μm (aumento de 40x).



## **Discussão**

## 5. DISCUSSÃO

No presente estudo, avaliamos a participação da via da STAT3 em neurônios que expressam POMC no ARC na homeostase energética e glicêmica. Esses neurônios contribuem para a diminuição da ingestão alimentar e são alvos diretos da leptina (CHEUNG *ET AL.*, 1997; COWLEY *ET AL.*, 2001), que ativa a via da STAT3 (WHITE *ET AL.*, 1997; BANKS *ET AL.*, 2000). Além da leptina, outras citocinas, como o CNTF, também ativam STAT3 (PETERSON *ET AL.*, 2000; BONNI *ET AL.*, 1993; WEGENKA *ET AL.*, 1994; DARNELL *ET AL.*, 1994; STAHL *ET AL.*, 1994; STAHL *ET AL.*, 1995; LUTTICKEN *ET AL.*, 1994; NARAZAKI *ET AL.*, 1994; GUSCHIN *ET AL.*, 1995), resultando em hipofagia e diminuição do peso corporal em camundongos com DIO, diferentemente da leptina (GLOAGUEN *ET AL.*, 1997; LAMBERT *ET AL.*, 2001). Buscando compreender se a via da STAT3 em neurônios POMC participa das ações do CNTF na homeostase energética, utilizamos o sistema cre-lox para gerar camundongos com deleção condicional de STAT3 em neurônios POMC do ARC, nos quais avaliamos a homeostase energética e glicêmica, assim como o efeito do CNTF no peso corporal e na ingestão alimentar.

Nossos resultados demonstraram que, sob RD, a deleção de STAT3 em neurônios POMC do ARC afeta o peso corporal de machos e fêmeas quando comparados aos respectivos controles (STAT3<sup>F1/F1</sup>). XU *ET AL.* (2007) demonstraram anteriormente que fêmeas com deleção de STAT3 em neurônios POMC tratadas com RD apresentavam maior ganho de peso do que as camundongas controles a partir de dois meses de idade, o que não foi observado nos machos. Em nosso estudo, observamos que as fêmeas POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>F1/F1</sup> apresentam maior ganho de peso em relação ao grupo controle após a 6ª semana de idade, corroborando os resultados de XU *ET AL.* (2007). No entanto, nos machos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>F1/F1</sup> observamos o aumento significativo do peso corporal após a 15ª semana de idade em relação aos camundongos STAT3<sup>F1/F1</sup>, o que não foi encontrado por XU *ET AL.* (2007), que acompanhou os animais por até 6 meses de idade (24 semanas).

A via da STAT3 é ativada no hipotálamo após a administração de leptina (DARNELL, 1996; VAISSE *ET AL.*, 1996) e sua importância na regulação do balanço energético pode ser demonstrada em camundongos com deleção de STAT3 no SNC que simulam o fenótipo de animais com deficiência do LepRb (*db/db*) ou de leptina (*ob/ob*), desenvolvendo o fenótipo obeso a partir da 6ª semana de idade e hiperfagia (GAO *ET AL.*, 2004), assim como em camundongos com mutação do Tyr<sub>1138</sub> do LepRb (BATES *ET AL.*,

2003). A importância de neurônios POMC na homeostase energética foi demonstrada por YASWEN *ET AL.* (1999) em camundongos *knockout* para o gene da POMC que apresentam maior peso corporal e hiperfagia quando comparados a animais controles, o que também foi observado em animais com deleção de LepRb em neurônios POMC (BALTHASAR *ET AL.*, 2004; DO CARMO *ET AL.*, 2011). Enquanto XU *ET AL.* (2007) mostraram que a deleção de STAT3 em neurônios POMC diminui a expressão de mRNA do gene *Pomc*, aumenta o conteúdo de tecido de adiposo de forma sexo-específica e mantém resposta normal à leptina, ERNST *ET AL.* (2009) observaram que a superativação de STAT3 inicia um mecanismo de retroalimentação negativa capaz de inibir as ações tanto da leptina quanto da insulina no SNC, contribuindo para o aumento da expressão hipotalâmica de SOCS3 e, conseqüentemente para a resistência à leptina induzida por HFD (ROSENBAUM *ET AL.*, 2008; ERNST *ET AL.*, 2009).

Em relação à ingestão alimentar, nossos dados demonstraram que a deleção condicional de STAT3 em neurônios POMC não alterou a ingestão alimentar ao longo do período de estudo em machos que receberam RD ou HFD. Porém, nas fêmeas POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>Fl/Fl</sup> que receberam RD ou HFD, a ingestão alimentar foi maior em relação ao respectivo grupo controle (STAT3<sup>Fl/Fl</sup>). Nossos resultados, tanto em machos como em fêmeas são concordantes com os resultados obtidos por XU *ET AL.* (2007).

Nossos dados demonstraram que o aumento do peso corporal foi mais proeminente em fêmeas do que em machos, tanto sob RD quanto HFD, além disto, o aumento da ingestão alimentar foi maior apenas nas fêmeas POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>Fl/Fl</sup> tratadas com as duas dietas. Esses resultados evidenciaram um dimorfismo sexual em que os efeitos da deleção de STAT3 em neurônios POMC na homeostase energética são mais acentuados nas fêmeas.

Sabe-se que o estradiol, além de suas funções na reprodução, exerce também importantes ações metabólicas na regulação da homeostase energética (MAUVAIS-JARVIS, *ET AL.*, 2013 ; XU & LÓPEZ, 2018; GEARY *ET AL.*, 2001; WITTE, *ET AL.*, 2010). Durante o ciclo menstrual, as mulheres apresentam diminuição da ingestão alimentar na fase pré-ovulatória, quando os níveis de estradiol estão elevados. Porém, na fase lútea, quando os níveis de estradiol diminuem, as mulheres passam a ingerir mais alimento (BUFFENSTEIN *ET AL.*, 1995; DYE & BLUNDELL, 1997; REBOUÇAS *ET AL.*, 2016). Em roedores, o proestro e o estro coincidem com o pico de estradiol e a ingestão alimentar está reduzida, aumentando no

diestro, quando os níveis deste hormônio estão reduzidos (BECKER *ET AL.*, 2005; ECKEL *ET AL.*, 2011; REBOUÇAS *ET AL.*, 2016).

Outra circunstância que reflete a importância do estradiol na homeostase energética é observada em mulheres durante a menopausa, quando os níveis de estradiol estão diminuídos (STACHOWIAK *ET AL.*, 2015; RIVERA & STINCIC, 2018), tornando-as mais susceptíveis ao desenvolvimento de obesidade e SM (STACHOWIAK *ET AL.*, 2015; RIVERA & STINCIC, 2018). Da mesma maneira, fêmeas submetidas à ovariectomia (OVX) apresentam ganho de peso e aumento da adiposidade devido ao efeito tônico inibitório do estradiol (BLAUSTEIN & WADE, 1976; ROGERS *ET AL.*, 2009; REBOUÇAS *ET AL.*, 2016; XU & LÓPEZ, 2018). A reposição hormonal de estradiol tanto em mulheres na menopausa quanto em animais OVX é capaz de restaurar as ações deste hormônio na regulação do peso corporal e da ingestão alimentar (ASARIAN *ET AL.*, 2002; SILVA *ET AL.*, 2010; RIVERA & STINCIC, 2018). Além disso, SILVA *ET AL.* (2010) demonstraram que a hipofagia em resposta ao tratamento com estradiol está relacionada ao aumento da expressão de mediadores anorexigênicos no hipotálamo, como o LepRb, MC4R e o fator liberador de corticotrofina (CRF), assim como fatores periféricos, como a leptina. MARANGON *ET AL.* (2014) demonstraram que parte dos efeitos do estradiol que modulam as ações da leptina no balanço energético são moduladas pelo receptor de CRF do tipo 2 (CRF-R2). Em fêmeas OVX com reposição de estradiol, a leptina diminuiu o peso corporal e a ingestão alimentar, sendo estes efeitos do estradiol abolidos com o tratamento com o antagonista de CRF-R2 (MARANGON *ET AL.*, 2014).

As ações metabólicas do estradiol são mediadas pelo receptor de estrógeno  $\alpha$  (ER $\alpha$ ), uma vez que a mutação global deste receptor promove obesidade em camundongos e humanos (HEINE *ET AL.*, 2000; OKURA *ET AL.*, 2003). Foi demonstrado também que, camundongos *knockouts* para ER $\alpha$  apresentam aumento do peso corporal e adiposidade, alteração da homeostase glicêmica, diminuição do gasto energético, hiperleptinemia e hiperinsulinemia (TRÉMOLLIERES *ET AL.*, 1996; HEINE *ET AL.*, 2000; TOTH *ET AL.*, 2000; OGAWA *ET AL.*, 2003; BRYZGALOVA *ET AL.*, 2006; REBOUÇAS *ET AL.*, 2016). A isoforma ER $\alpha$  é expressa amplamente por todo o SNC, inclusive em núcleos hipotalâmicos relacionados ao controle da homeostase energética, como o VMH e ARC (MERCHENTHALER *ET AL.*, 2004). A deleção condicional de ER $\alpha$  em neurônios SF1 (fator esteroideogênico 1) do VMH ou de neurônios POMC do ARC resulta em um fenótipo obeso, semelhante ao do *knockout* global para ER $\alpha$  (XU *ET AL.*, 2011). Aproximadamente 30% dos neurônios que expressam POMC no ARC co-expressam ER $\alpha$  (MILLER *ET AL.*, 1995; DE SOUZA *ET AL.*, 2011; XU *ET AL.*,

2011). A deleção de ER $\alpha$  em neurônios POMC leva ao desenvolvimento de um fenótipo hiperfágico semelhante ao encontrado em camundongos *knockout* para ER $\alpha$  em todo o SNC (XU *ET AL.*, 2011). O estradiol atua aumentando a transcrição da *Pomc* diminuindo a ingestão alimentar, o peso corporal e a adiposidade (STEYN *ET AL.*, 2018).

O estradiol é capaz de ativar diversas vias de sinalização, incluindo a da STAT3 (GAO *ET AL.*, 2007). A importância dessa via nas ações metabólicas do estradiol já haviam sido demonstradas por GAO *ET AL.* (2007) em camundongas *knockouts* para STAT3 no SNC, as quais não apresentam a diminuição do peso corporal após a reposição exógena com estradiol em fêmeas ovariectomizadas. Este trabalho também demonstrou que a administração aguda de estradiol ativa STAT3 no hipotálamo mediobasal na presença (camundongas selvagens) ou ausência de leptina (camundongas *ob/ob*), enfatizando que o estradiol ativa STAT3 diretamente, independente da sinalização da leptina (GAO *ET AL.*, 2007). Outro receptor ao qual o estradiol se liga é o receptor acoplado à proteína G 30 (GPR30) que, quando ativado promove a fosforilação de STAT3 no ARC e, conseqüentemente, induz respostas anorexígenas (KOWN *ET AL.*, 2014). O *knockout* global de GPR30 promove o aumento do peso corporal, demonstrando a sua importância no controle do balanço energético (SHARMA *ET AL.*, 2013). KOWN *ET AL.* (2014) demonstraram que o estradiol aumenta a fosforilação de STAT3 de maneira dose-dependente em células hipotalâmicas. Além disso, o mesmo trabalho demonstrou que o GPR30 ativa a via anorexígena mediada pelo STAT3 no ARC (KOWN *ET AL.*, 2014), sugerindo que o estradiol e a leptina compartilham a via anorexígena, no hipotálamo, por meio do GPR30. O dimorfismo sexual observado no presente estudo requer mais estudos para investigar a possível interação da via da sinalização da leptina e do estradiol, mediada pela STAT3 em neurônios POMC.

Dados obtidos pelo nosso laboratório demonstraram que a via da STAT3 em neurônios que expressam SF1 no VMH é fundamental na manutenção do balanço energético em animais expostos à HFD, mas não em condições normocalóricas, sugerindo que em resposta à RD, outros núcleos hipotalâmicos estariam envolvidos, entre eles o ARC (GONÇALVES, 2019 NÃO PUBLICADO). Nesse contexto, o presente trabalho demonstrou que a via da STAT3 em neurônios POMC é fundamental na manutenção do peso corporal e da ingestão alimentar em condições normocalóricas e que essa resposta é mais proeminente em fêmeas do que nos machos.

A deficiência de leptina (camundongos *ob/ob*) ou de seu receptor (camundongos *db/db*) promove a diminuição do gasto energético, contribuindo para o desenvolvimento do fenótipo obeso (AHIMA & FLIER, 2000). A diminuição do gasto energético também foi demonstrada em camundongos com deleção de STAT3 no SNC por meio da diminuição da temperatura corporal em aproximadamente 0,5 °C em relação aos animais controles (GAO *ET AL.*, 2004). Porém, a deleção de STAT3 em neurônios que expressam LepRb não altera o gasto energético (BATES *ET AL.*, 2003). A deleção de LepRb em neurônios POMC do ARC também não diminui o gasto energético (BALTHASAR *ET AL.*, 2004; DO CARMO *ET AL.*, 2011). O presente trabalho demonstrou que camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>Fl/Fl</sup> apresentaram maior ganho de peso sem alterar a ingestão alimentar, sugerindo que poderia haver uma diminuição do gasto energético desses animais em relação ao grupo controle alimentado com RD.

Apresentamos também dados relativos ao controle glicêmico de animais sob RD ou HFD. Observamos que a deleção de STAT3 em neurônios POMC do ARC altera a regulação da homeostase glicêmica em fêmeas alimentadas com RD durante o GTT, mas não nos machos. Entretanto, frente a outros desafios, como a administração de insulina (ITT), a ausência da sinalização de STAT3 nesses neurônios não alterou a sensibilidade à insulina em ambos os sexos, assim como em relação à glicemia basal de todos os grupos em estudo (RD e HFD).

A deficiência de LepR (camundongos *db/db*) ou da ação da leptina (camundongos *ob/ob*) causa hiperglicemia e aumenta a predisposição ao desenvolvimento de DM2 (CHEN, *ET AL.*, 1996; CHUA *ET AL.*, 1996; LEE *ET AL.*, 1996; KOBAYASHI *ET AL.*, 2000). As ações da leptina que contribuem para a manutenção da homeostase glicêmica podem ser observadas após sua administração central ou periférica (LIU *ET AL.*, 1998) e parecem regular diretamente a produção de insulina pelas células  $\beta$  pancreáticas, suprimindo a secreção de insulina (KULKARNI *ET AL.*, 1997).

A importância da via da STAT3 na homeostase glicêmica foi demonstrada através da deleção deste fator de transcrição em neurônios que expressam LepRb por BATES *ET AL.* (2005). Os animais que não apresentam STAT3 nesses neurônios desenvolvem alterações moderadas na homeostase da glicose quando comparados aos camundongos *ob/ob*, como hiperinsulinemia, hiperglicemia e tolerância à glicose reduzida e resistência à insulina (BATES *ET AL.*, 2005).

Neurônios POMC do ARC também desempenham um papel importante na homeostase glicêmica (CLARET *ET AL.*, 2007; PARTON *ET AL.*, 2007; HILL *ET AL.*, 2010). SHI *ET AL.* (2008) demonstraram que a deficiência de LepRb em neurônios POMC do ARC em promove tolerância reduzida à glicose e resistência à insulina em machos, mas não em fêmeas. ALSINA *ET AL.* (2018) observaram que camundongas *knockout* para POMC do ARC não apresentarem diferença na glicemia basal. No entanto, este mesmo estudo demonstrou que as fêmeas possuem tolerância reduzida à sobrecarga de glicose em relação ao grupo controle e sensibilidade reduzida à insulina, o que não foi demonstrado nos machos (ALSINA *ET AL.*, 2018). Nossos resultados estão de acordo com este último trabalho, uma vez que camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>Fl/Fl</sup> machos e fêmeas não apresentaram diferença na glicemia e a tolerância à glicose estava reduzida nas fêmeas, mas não nos machos.

O aumento do peso do TABr em camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>Fl/Fl</sup> em relação aos animais controles de ambos os sexos que receberam RD reflete a importância da via da STAT3 em neurônios POMC no controle da adiposidade corporal. XU *ET AL.*, 2007 já haviam demonstrado que camundongas fêmeas alimentadas com RD, com deleção de STAT3 em neurônios POMC, mas não os machos, apresentam maior adiposidade em relação aos animais controles, o que foi evidente no TAB inguinal, retroperitoneal e perigonadal. Ainda, GAO *ET AL.* (2004) demonstraram que o *knockout* de STAT3 no SNC apresenta aumento do conteúdo adiposo em relação à animais selvagens, semelhante ao encontrado em camundongos com deficiência de LepR, com deficiência de STAT3 em neurônios que expressam LepR (BATES *ET AL.*, 2005) ou com mutação de LepRb em neurônios que expressam POMC (BALTHASAR *ET AL.*, 2004).

O aumento do conteúdo lipídico interfere na homeostase glicêmica e lipídica (KUSMINSKI, *ET AL.*, 2016), o que contribui para o desenvolvimento de DM2, doença hepática gordurosa não alcoólica (NAFLD), dentre outras condições patológicas (VANNI, *ET AL.*, 2010; MILIĆ *ET AL.*, 2014). A NAFLD é uma manifestação hepática da SM caracterizada pelo acúmulo de adiposidade abdominal, aumento do peso do fígado e aumento do conteúdo hepático de triglicerídeos e resistência insulínica (MILIĆ *ET AL.*, 2014). Além disso, a progressão da NAFLD causa esteatose hepática, caracterizada por lesões fibróticas e inflamação (FISCHER *ET AL.*, 2018). Uma das formas de induzir a NAFLD é por meio do uso de HFD, o que permite mimetizar características metabólicas e fisiológicas da NAFLD (JAHN *ET AL.*, 2019). No presente estudo, demonstramos que a HFD promove o

aumento do peso do fígado em relação ao grupo tratado com RD tanto em machos quanto em fêmeas, independente do genótipo do animal, assim como observado em camundongos *knockouts* para STAT3 (GAO *ET AL.*, 2004). Este mesmo trabalho demonstrou a maior quantidade de depósitos de lipídios no fígado, o que não é observado em camundongos com *knockout* de STAT3 nos hepatócitos. (GAO *ET AL.*, 2004).

Como descrito anteriormente, outras citocinas também participam da regulação da homeostase energética (RIOS, 2018), entre as quais enfatizamos o CNTF, que atua através da ligação com o CNTFR e recruta várias vias de sinalização, como a da JAK/STAT3 (PETERSON *ET AL.*, 2000; STAHL & YANCOPOULOS, 1993; STAHL *ET AL.*, 1994). O papel do CNTF da homeostase energética foi descrito primeiramente em pacientes com ELA, os quais apresentaram hipofagia e perda de peso (MILLER *ET AL.*, 1996A), o que também foi observado por ETTINGER *ET AL.* (2003) em indivíduos obesos. O mesmo efeito também foi observado em camundongos obesos (LAMBERT *ET AL.*, 2001; GLOAGEN *ET AL.*, 1997; SLEEMAN *ET AL.*, 2003). Como o CNTFR é encontrado em neurônios que expressam o neuropeptídeo POMC no ARC (COVREUR *ET AL.*, 2011) e o CNTF utiliza a via da STAT3 (PETERSON *ET AL.*, 2000; BONNI *ET AL.*, 1993; WEGENKA *ET AL.*, 1993; DARNELL *ET AL.*, 1994; STAHL *ET AL.*, 1994; STAHL *ET AL.*, 1995; LUTTICKEN *ET AL.*, 1994; NARAZAKI *ET AL.*, 1994; GUSCHIN *ET AL.*, 1995), assim como a leptina, levantamos a hipótese de que esta via, em neurônios POMC, poderia participar das ações do CNTF na homeostase energética.

O presente trabalho demonstrou que o CNTF diminuiu o peso corporal e a ingestão alimentar em camundongos machos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD, o que corrobora diversos trabalhos que mostraram o papel do CNTF na homeostase energética tanto em camundongos (LAMBERT *ET AL.*, 2001; GLOAGEN *ET AL.*, 1997; SLEEMAN *ET AL.*, 2003) quanto humanos (MILLER *ET AL.*, 1996A; ETTINGER *ET AL.*, 2003). Os resultados obtidos no presente estudo indicam que o efeito hipofágico do CNTF não ocorre por meio da via da STAT3 em neurônios POMC, uma vez que ambos os grupos perderam peso e apresentaram hipofagia.

Os neurônios POMC expressam as subunidades do CNTFR (COUVREUR *ET AL.*, 2012) e a sua importância nos efeitos anorexígenos do CNTF foi demonstrada em animais com a deleção de gp130 nesses neurônios, nos quais a resposta ao CNTF foi abolida, assim como a fosforilação de STAT3 em neurônios POMC (JANOSCHEK *ET AL.*, 2006). Além disso, sabe-se que o CNTFR $\alpha$  e o LepRb estão co-localizados no ARC (Ziotopoulou *et al.*,



2000; GLOAGUEN ET AL., 2001; AMBATI ET AL., 2007), entretanto, camundongos com deleção de CNTFR $\alpha$  em neurônios que co-expressam LepRb não apresentam mudanças na resposta anorexígena ao CNTF, demonstrando que o CNTF e a leptina agem por vias independentes promovendo a diminuição da ingestão alimentar (STEFATER ET AL., 2012).

Este trabalho demonstrou também que o efeito hipofágico do CNTF se manteve por três dias após o término do tratamento, tanto em camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>Fl/Fl</sup> como STAT3<sup>Fl/Fl</sup>. O mesmo foi demonstrado por LAMBERT ET AL. (2001) em camundongos DIO, os quais mantiveram a ingestão calórica diminuída e não recuperam o peso corporal por cerca de 10 dias após o término do tratamento. Esse efeito prolongado do CNTF sugere que a sua ação anorexígena envolva modificações em longo prazo das redes neuronais hipotalâmicas que atuam na regulação do balanço energético (KOKOEVA ET AL., 2005; JANOSCHECK ET AL., 2006).

O CNTF administrado sistemicamente, assim com a leptina, se difunde por meio dos órgãos circunventriculares e alcançam as células endimárias, que se localizam nos ventrículos (SEVERI ET AL., 2012), e ativa STAT3 em neurônios que expressam NPY ou POMC no ARC (AMBATI ET AL., 2007), sugerindo que a administração exógena de CNTF apresenta uma resposta anorexígena semelhante à da leptina (LAMBERT ET AL., 2001; ANDERSON ET AL., 2003; JANOSCHECK ET AL., 2006). Contudo, o padrão de expressão de STAT3 fosforilada (forma ativa) é diferente entre o CNTF e a leptina: enquanto esta ativa STAT3 no ARC, VMH, DMH, LHA e área perifornical (HUBSCHLE ET AL., 2001; FRONTINI ET AL., 2008; SCOTT ET AL., 2008), o CNTF induz a fosforilação de STAT3 no ARC, na camada endimária do terceiro ventrículo (3V) e na EM (LAMBERT ET AL., 2001; ANDERSON ET AL., 2003; SEVERI ET AL., 2012). Os resultados do presente estudo com animais controles STAT3<sup>Fl/Fl</sup> estão de acordo com esses dados da literatura (Figuras 10 e 22). Em contrapartida, no animal com deleção de STAT3 em neurônios POMC (POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>Fl/Fl</sup>) tratado com CNTF, a fosforilação de STAT3 se restringe à região da EM e das células endimárias do 3V.

O CNTF também ativa STAT1 e STAT5 em células gliais ou tanicitos da EM, porém apenas STAT3 é fosforilado em alguns neurônios do ARC e da EM (SEVERI ET AL., 2015). Os tanicitos são células endimárias especializadas que apresentam prolongamentos que formam terminais sobre os vasos sanguíneos, de modo a facilitar a passagem de substâncias através da BHE (LANGLET ET AL., 2014). Em condições

fisiológicas, os tanicitos se proliferam e geram novos neurônios que migram para o parênquima hipotalâmico, tornando-se responsivos a aferências metabólicas, como leptina ou jejum (LEE *ET AL.*, 2012). O CNTF alcança tanicitos do tipo  $\beta$  e altera suas propriedades estruturais e funcionais, possivelmente modulando o transporte de hormônios metabólicos, como a leptina e a insulina (LANGLET *ET AL.*, 2013; BALLAND *ET AL.*, 2014). Nesse contexto, é possível que o CNTF alcance os neurônios do ARC através dos longos processos dos tanicitos e atue nos neurônios POMC, inclusive em situações fisiológicas (LAMBERT *ET AL.*, 2001; RODRIGUEZ *ET AL.*, 2005; JANOSCHEK *ET AL.*, 2006).

Ainda, os tanicitos são considerados possíveis células troncos presentes nos órgãos circumventriculares (BENNETT *ET AL.*, 2009). O estímulo central com CNTF promove a proliferação de células hipotalâmicas em camundongos (KOKOVEA *ET AL.*, 2005), as quais podem originar neurônios, oligodendrócitos ou astrócitos. As novas células neuronais, por sua vez, se diferenciam em neurônios do ARC sensíveis à leptina, o que pode explicar o efeito anorexígeno prolongado em resposta ao CNTF.

Assim, diante dos resultados obtidos em camundongos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>;STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e STAT3<sup>Fl/Fl</sup>, é provável que outra via, não a da STAT3, em neurônios POMC esteja envolvida nos efeitos hipofágicos induzidos pelo CNTF, como a via da STAT1 ou da STAT5 (SEVERI *ET AL.*, 2015). Além disso, os efeitos do CNTF na homeostase energética podem ser mediados pelas vias da MAPK (ASKVIG & WATT, 2015). da PI3K/AKT (ASKVIG & WATT, 2015). A ligação do CNTF ao CNTFR ativa JAK2, que por sua vez, fosforila SHP-2 e inibe a via da JAK/STAT ao desfosforilar JAK2 e/ou o heterodímero gp130/LIFR, permitindo a ativação da via da ERK e da PI3K (LELIÈVRE, *ET AL.*, 2001). Ainda, deve-se considerar que outras células, que não os neurônios POMC, poderiam estar envolvidos na diminuição do peso corporal e da ingestão alimentar em resposta ao CNTF, como astrócitos, tanicitos e outras células gliais.

**Conclusão**

## 6. CONCLUSÃO

Em conclusão, o presente trabalho demonstrou que a via da STAT3 em neurônios POMC do ARC participa do controle da homeostase energética em situação normocalórica em machos e fêmeas, assim como em fêmeas em resposta ao desafio com HFD. Além disso, demonstrou que a via da STAT3 em neurônios POMC não participa da regulação da homeostase glicêmica em machos. Porém em fêmeas alimentadas com RD, a deleção de STAT3 em neurônios POMC causou tolerância reduzida à glicose.

O presente trabalho demonstrou, também, que a diminuição do peso corporal e hipofagia induzidas pelo CNTF não dependem da via da STAT3 em neurônios POMC, sugerindo que outras vias e/ou outras células estejam envolvidas nessas respostas.

## **Referências Bibliográficas<sup>1</sup>**

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adler, R; Landa, KB; Manthorpe, M; Varon, S. Cholinergic neuronotrophic factors: intraocular distribution of trophic activity for ciliary neurons. *Science*. v.204. n.4400. p.1434-1436. 1979.

Ahima, RS; Flier, JS. Leptin. *Annual Review of Physiology*. v.62. p. 413-437. 2000.

Allen, TL; Matthews, VB;Febbraio, MA.Overcoming insulin resistance with ciliary neurotrophic factor. *Handbook of Experimental Pharmacology*. v.203. p.179-199. 2011.

Allison, MB & Myers Jr, MG. 20 years of leptin: Connecting leptin signaling to biological function. *Journal of Endocrinology – Physiology, Metabolism and Translation*. v.223. n.1. T25-T35. 2014.

Alsina, R; Trotta, M; Bumaschny, VF. Hypothalamic Proopiomelanocortin is necessary for normal glucose homeostasis in female mice. *Frontiers in Endocrinology*. v.9. n.554. 2018.

Ambati, S; Duan, J; Duff, E; Chi, YH; Hartzell, DL; Della-Fera, MA; Baile, CA. Gene expression in arcuate nucleus-median eminence of rats treated with leptin or ciliary neurotrophic factor. *BioFactors*. v.31. n.2. 133-144. 2007.

Anderson, KD; Lambert, PD; Corcoran, TL; Murray, JD; Thabet, KE; Yancopoulos, GD; Wiegand, SJ. Activation of the hypothalamic arcuate nucleus predicts the anorectic actions of ciliary neurotrophic factor and leptin in intact and gold thioglucose-lesioned mice. *Journal of Neuroendocrinology*. v.15. n.7. p. 649-660. 2003.

Andre, C; Catania, C; Remus-Borel, J; Ladeveze, E; Leste-Lasserre, T; Mazier, W; Binder, E; Gonzales, D; Clark, S; Guzman-Quevedo, O; Abrous, DN; Layé, S; Cota, D. mTORC1 pathway disruption abrogates the effects of the ciliary neurotrophic factor on energy balance and hypothalamic neuroinflammation. *Brain, Behavior and Immunity*. v.70. p. 325-334. 2018.

Asarian, L; Geary, N. Cyclic estradiol treatment normalizes body weight and restores physiological patterns of spontaneous feeding and sexual receptivity in ovariectomized rats. *Hormones and Behavior*. v.42. n.4. p. 461-471. 2002.

Askvig, JM; Lo, DY; Sudbeck, AW; Behm, KE; Leiphon, LJ; Watt, JA. Inhibition of the Jak-STAT pathway prevents CNTF-mediated survival of axotomized oxytocinergic magnocellular neurons in organotypic cultures of the rat supraoptic nucleus. *Experimental Neurology*. v.240. p. 75-87. 2013.

Askvig, JM; Watt, JA. The MAPK and PI3K pathways mediate CNTF-induced neuronal survival and process outgrowth in hypothalamic organotypic cultures. *Journal of Cell Communication and Signaling*. v.9. n.3. p. 217-231. 2015.

Baker, KD; Loughman, A; Spencer, SJ; Reichelt, AC. The impact of obesity and hypercaloric diet consumption on anxiety and emotional behavior across the lifespan. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* v.83. p.173-182. 2017.

Balland, E; Dam, J; Langlet, F; Caron, E; Steculorum, S; Messina, A; Rasik, S; Falluel-Morel, A; Anouar, Y; Dehouck, B; Trinquet, E; Jockers, R; Bouret, SG; Prévot, V. Hypothalamic tanycytes are an ERK-gated conduit for leptin into the brain. *Cell Metabolism*. v.19. n.2. p.293-301. 2014.

Balthasar, N; Coppari, R; McMinn, J; Liu, SM; Lee, CE; Tang, V; Kenny, CD; McGovern, RA; Chua Jr, SC; Elmquist, JK; Lowell, BB. Leptin receptor signaling in POMC neurons is required for normal body weight homeostasis. *Neuron*. v.42. n.6. p. 983-991. 2004.

Balthasar, N; Dalgaard, LT; Lee, CE; Yu, J; Funahashi, H; Williams, T; Ferreira, M; Tang, V; McGovern, RA; Kenny, CD; Christiansen, LM; Edelstein, E; Choi, B; Boss, O; Aschkenasi, C; Zhang, CY; Mountjoy, K; Kishi, T; Elmquist, JK; Lowell, BB. Divergence of melanocortin pathways in the control of food intake and energy expenditure. *Cell*. v.123. n.3. p.493-505. 2005.

Banks, AS; Davis, SM; Bates, SH; Myers Jr, MG. Activation of downstream signals by the long form of the leptin receptor. *The Journal of Biological Chemistry*. v. 275. n.19. p. 14563-14572. 2000.

Bates, SH; Kulkarni, RN; Seifert, M; Myers Jr. MG. Roles for leptin receptor/STAT3-dependent and independent signals in the regulation of glucose homeostasis. *Cell Metabolism*. v.1. n.3. p. 169-178. 2005.

Bates, SH; Stearns, WH; Dundon, TA; Schubert, M; Tso, AW; Wang, Y; Banks, AS; Lavery, HJ; Haq, AK; Maratos-Flier, E; Neel, BG; Schwartz, MW; Myers Jr, MG. STAT3 signalling is required for leptin regulation of energy balance but not reproduction. *Nature*. v.421. n.6925. p. 856-859. 2003.

Beach, KM; Wang, J; Otteson, DC. Regulation of stem cell properties of Müller glia by JAK/STAT and MAPK signaling in the mammalian retina. *Stem Cells International*. v.2017. p. 1610691. 2017.

Becker, JB; Arnold, AP; Berkley, KJ; Blaustein, JD; Eckel, LA; Hampson, E; Herman, JP; Marts, S; Sadee, W; Steiner, M; Taylor, J; Young, E. Strategies and methods for research on sex differences in brain and behavior. *Endocrinology*. v.146. n.4. p. 1650-1673. 2005.

Bennett, L; Yang, M; Enikolopov, G. Circumventricular organs: a novel site of neural stem cells in the adult brain. *Molecular and Cellular Neurosciences*. v.41. n.3. p.337-347. 2009.

Benomar, Y; Berthou, F; Vacher, CM; Bailleux, V; Getler, A; Djiane, J; Taouis, M. Leptin but not ciliary neurotrophic factor (CNTF) induces phosphotyrosine phosphatase-1B expression in human neuronal cells (SH-SY5Y): putative explanation of CNTF efficacy in leptin-resistant state. *Endocrinology*. v.150. n.3. p.1182-1191. 2009.

BioRender. 2020. Disponível em: <https://biorender.com/>. Acesso em: 05 de fevereiro de 2020.

Bittencourt, JC; Elias, CF. Controle Neuroendócrino da Ingestão Alimentar. In: *Neuroendocrinologia Básica e Aplicada*. Ed. Antunes-Rodrigues, J. 1ª edição. Guanabara Koogan. p.135-161. 2005.

BjØbaek, C; El-Haschimi, K; Frantz, JD; Flier, JS. The role of SOCS3 in leptin signaling and leptin resistance. *Journal of Biological Chemistry*. v.274. n.42. p.30059-30065. 1999.

BjØbaek, C; Lavery, HJ; Bates, SH; Olson, RK; Davis, SM; Flier, JS; Myers, MG Jr. SOCS3 mediates feedback inhibition of the leptin receptor via Tyr<sub>985</sub>. *Journal of Biological Chemistry*. v.275. n.51. p.40649-40657. 2000.

Blaustein, JD; Wade, GN. Ovarian influences on the meal patterns of female rats. *Physiology and Behavior*. v.17. n.2. p. 201-208. 1976.



Bloch, J; Bachoud-Lévi, AC; Déglon, N; Lefaucheur, JP; Winkel, L; Palfi, S; Nguyen, JP; Bourdet, C; Gaura, V; Remy, P; Brugières, P; Boisse, MF; Baudic, S; Cesaro, P; Hantraye, P; Aebischer, P; Peschanski, M. Neuroprotective gene therapy for Huntington's disease, using polymer-encapsulated cells engineered to secrete human ciliary neurotrophic factor: results of a phase I study. *Human Gene Therapy*. v.15. n.10. p. 968-975. 2004.

Bongianni, P; Reali, C; Sogos, V. Ciliary neurotrophic factor (CNTF) for amyotrophic lateral sclerosis or motor neuron disease (Review). *Cochrane Database of Systemic Reviews*. n. 2004.

Bonni, A; Frank, DA; Schindler, C; Greenberg, ME. Characterization of a pathway for ciliary neurotrophic factor signaling to the nucleus. *Science*. v.262. n.5139. p.1575-1579. 1993.

Boulton, TG; Stahl, N; Yancopoulos, GD. Ciliary neurotrophic factor / leukemia inhibitory factor / interleukin 6 / oncostatin M Family of cytokines induces tyrosine phosphorylation of a common set of proteins overlapping those induced by other cytokines and growth factor. *The Journal of Biological Chemistry*. v.269. n.15. p.11648-11655. 1994.

Brown, WV; Fujioka, K; Wilson, PW; Woodworth, KA. Obesity: why be concerned?. *The American Journal of Medicine*. v.122, n.4. p.I-CO4. 2009.

Bryzgalova, G; Gao, H; Ahren, B; Zierath, JR; Galuska, D; Steiler, TL; Dahlman-Wright, K; Nilsson, S; Gustafsson, JA; Efendic, S; Khan, A. Evidence that oestrogen receptor alpha plays an important role in the regulation of glucose homeostasis in mice: insulin sensitivity in the liver. *Diabetologia*. v.49. n.3. p. 588-597. 2006.

Buffenstein R, Poppitt SD, McDevitt RM, Prentice AM. Food intake and the menstrual cycle: a retrospective analysis, with implications for appetite research. *Physiology and Behavior*. v. 58. n.6. p. 1067-1077. 1995.

Caballero, AR. Endothelial dysfunction in obesity and insulin resistance: a road to diabetes and heart disease. *Obesity Research*. v.11. n.11. p.1278-1289. 2003.

Caro, JF; Kolaczynski, JW; Nyce, MR; Ohannesian, JP; Goldman, WH; Lynn, RB; Zhang, PL; Sinha, MK; Considine, RV. Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in

obesity: a possible mechanism for leptin resistance. *Lancet*. v.348. n.9021. p. 159-161. 1996.

Cedarbaum, JM. The amyotrophic lateral sclerosis functional scale: Assessment of activities of daily living in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Archives of Neurology*. v.53. n.2. p. 141-147. 1996.

Chao, MV. Neurotrophins and their receptors: a convergence point for many signaling pathways. *Nature Reviews Neuroscience*. v.4. n.4. p. 299-309. 2003.

Chen, H; Charlat, O; Tartaglia, LA; Woolf, EA; Weng, X; Ellis, SJ; Lakey, ND; Culpepper, J; Moore, KJ; Breitbart, RE; Duyk, GM; Tepper, RI; Morgenstern, JP. Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell*. v.84. n.3. p.491-495. 1996.

Cheung, CC; Clifton, DK, Steiner, RA. Proopiomelanocortin neurons are direct targets for leptin in the hypothalamus. *Endocrinology*. v.138. n.10. p.4489-4492. 1997.

Chin, YE; Kitagawa, M; Kuida, K; Flavell, RA; Fu, XY. Activation of the STAT signaling pathway can cause expression of caspase 1 and apoptosis. *Molecular and Cellular Biology*. v.17. n.9. p. 5328-5337. 1997.

Chua, SC; Chung, WK; Wu-Peng, XS; Zhang, Y; Liu, SM; Tartaglia, L; Leibel, RL. Phenotypes of mouse diabetes and rat fatty due to mutations in the OB (leptin) receptor. *Science*. v.271. n.5251. p. 994-996.1996.

Claret, M; Smith, MA; Batterham, RI; Selman, C; Choudhury, AI; Fryer, IG; Clements, M; Al-Qassab, H; Heffron, H; Xu, AW; Speakman, JR; Barsh, GS; Viollet, B; Vaulont, S; Ashford, ML; Carling, D; Whitters, DJ. AMPK is essential for energy homeostasis regulation and glucose sensing by POMC and AgRP neurons. *Journal of Clinical Investigation*. v.117. n.8. p.2325-2336. 2007.

Cone, RD. Anatomy and regulation of the central melanocortin system. *Nature Neuroscience*. v.8. n.5. p. 571-578. 2005.

Couvreur, O; Aubourg, A; Crépin, D; Degrouard, J; Gertler, A; Tausis, M; Vacher, CM. The anorexigenic cytokine ciliary neurotrophic factor stimulates POMC gene expression via

receptors localized in the nucleus of arcuate neurons. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. v.302. n.4. p.E458-467. 2012.

Cowley, MA; Smart, JL; Rubinstein, M; Cerdan, MG; Diano, S; Horvath, TL; Cone, RD; Low, MJ. Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. *Nature*. v.411. n.6836. p.480-484. 2001.

Crujeiras, AB; Carreira, MC; Cabia, B; Andrade, S; Amil, M; Casanueva, FF. Leptin resistance in obesity: na epigenetic landscape. *Life Sciences*. v.140. p. 57-63. 2015.

Dalamaga, M. Obesity, insulin resistance, adipocytokines and breast cancer: new biomarkers and attractive therapeutic targets. *World Journal of Experimental Medicine*. v.3. n.3. p. 34-42. 2013.

Dallner, C; Woods, AG; Deller, T; Kirsch, M; Hofmann, HD. CNTF and CNTF receptor alpha are constitutively expressed by astrocytes in the mouse brain. *Glia*. v.37.n.4. p.374-378. 2002.

Darnell Jr, JE. Reflections on STAT3, STAT5, and STAT6 as fat STATs. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United State of America*. v.96. n.13. p.6221-6224. 1996.

Darnell Jr, JE; Kerr, IM; Stark, GR. Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. *Science*. v.264. n.5164. p. 1415-1421. 1994.

Davis, S; Aldrich, TH; Ip, NY; Stahl, N; Scherer, S; Farruggella, T; DiStefano, PS; Curtis, R; Panayotatos, N; Gascan, H; Chevalier, S; Yancopoulos, GD. Released form of CNTF receptor  $\alpha$  component as a soluble mediator of CNTF responses. *Science*. v.259. n.5102. p.1736-1739.1993b.

Davis, S; Aldrich, TH; Stahl, N; Pan, L; Taga, T; Kishimoto; I, NY; Yancopoulos, GD . LIFR beta and gp130 as heterodimerizing signal transducers of the tripartite CNTF receptor. *Science*. v.260. n.5115. p.1805-1808. 1993a.

Davis, S; Aldrich, TH; Valenzuela, DM; Wong, V; Furth, ME; Squinto, SP; Yancopoulos, GD. The receptor for ciliary neurotrophic factor. *Science*. v.253. n.5015. p. 59-63. 1991.

De Heredia, F; Gómez-Martínez,S; Marcos, A. Obesity, inflammation and the immune system. *Proceedings of the Nutrition Society*. v.71. n.2. p;332-338. 2012.

de Souza, FS; Nasif, S; Lopez-Leal; Levi, DH; Low, MJ; Rubinsten, M. The estrogen receptor alpha colocalizes with Proopiomelanocortin in hypothalamic neurons and binds to a conserved motif present in the neuron-specific enhancer nPE2. *European Journal of Pharmacology*. v.660. n.1. p. 181-187. 2011.

Dittrich, F; Thoenen, H; Sendtner, M Ciliary neurotrophic factor: pharmacokinetics and acute-phase response in rat. *Annals of Neurology*. v.35. n.2. p.151-163. 1994.

do Carmo, JM; da Silva, AA; Cai, Z; Lin, S; Dubinion, JH; Hall, JE. Control of blood pressure, appetite and glucose by leptina in mice lacking leptin receptors in POMC neurons. *Hypertension*. v.57. n.5. p. 918-926. 2011.

Dye, L; Blundell, JE. Menstrual cycle and appetite control: implications for weight regulation. *Human Reproduction*. v.12. n.6. p. 1142-1151. 1997.

Eckel, LA. The ovarian hormone estradiol plays a crucial role in the control of food intake in females. *Physiology & Behavior*. v.104. n.4. p. 517-524. 2011.

Elias, CF, Bittencourt, JC. Controle Neuroendócrino do Comportamento Alimentar. In: *Fisiologia*, Ed. Aires, MM. 4ª edição. Guanabara Koogan. p. 378-393. 2012.

Elmqvist, JK; Bjørbaek, C; Ahima, RS; Flier, JS; Saper, CB. Distributions of leptin receptor mRNA isoforms in the rat brain. *Journal of Comparative Neurology*. v.395. n.4. p. 535-547. 1998.

Emerich, DF; Thanos, CG. Intracompartmental delivery of CNTF as therapy for Huntington's disease and retinitis pigmentosa. *Current Gene Therapy*. v.6. n.1. p. 147-159. 2006.

Emerich, DF; Winn, SR. Neuroprotective effects of encapsulated CNTF-producing cells in a rodent model of Huntington's disease are dependent on the proximity of the implant to the lesioned striatum. *Cell Transplantation*.v.13. n.3. p. 253-259.2004.

Ernst, MB; Wunderlich, CM; Hess, S; Pachler, M; Mesaros, A; Koralov, SB; Kleinriders, A; Husch, A; Münzberg, H; Hampel, B; Alber, J; Kloppenburg, P; Brüning, JC;

Wunderlich, FT. Enhanced STAT3 activation in POMC neurons provokes negative feedback inhibition of leptin and insulin signaling in obesity. *Journal of Neuroscience*. v.29. n.37. p.11582-11593. 2009.

Ettinger, M; Littlejohn, T; Schwartz, S; Wiss, S; McIlwain, H; Heymsfield, S; Bray, G; Roberts, W; Heyman, W; Stambler, N; Heshka, S; Vicary, C; Guler, H. Recombinant variant of ciliary neurotrophic factor for weight loss in obese adults: a randomized, dose-ranging study. *Journal of American Medical Association*. v.289. n.14. p.1826-1832. 2003.

Falkner, LD; Dowling, AR; Stuart, RC; Nillni, EA; Hill, JW. Reduced melanocortin production causes sexual dysfunction in male mice with POMC neuronal insulin and leptin insensitivity. *Endocrinology*. v.156. n.4. p. 1372-1385. 2015.

Febbraio, MA. gp130 receptor ligands as potential therapeutic targets for obesity. *Journal of Clinical Investigation*. v.117. n.4. p.841-849. 2007.

Fischer, IP; Irmeler, M; Meyer, CW; Sachs, SJ; Neff, F; Hrabec de Angelis, M; Beckers, J; Tschöp, MH; Hofmann, SM; Ussar, S. A history of obesity leaves a inflammatory fingerprint in liver and adipose tissue. *International Journal of Obesity*. v.42. n.3. p.507-517. 2018.

Franklin, KBJ; Paxinos, G. The mouse brain in stereotaxic coordinates. 3<sup>rd</sup> ed. New York: Academic Press & Elsevier. 2008.

Frederich, RC; Hamann, A; Anderson, S; Lollmann, B; Lowell, BB; Flier, JS. Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet-induced resistance to leptin. *Nature Medicine*. v.1. p. 1311-1314. 1995a.

Frederich, RC; Lollmann, B; Hamann, A; Napolitano-Rosen, A; Kahn, BB. Expression of ob mRNA and its encoded protein in rodents: impact of nutrition and obesity. *Journal of Clinical Investigation*. v.96. n.3. p. 1658-1663. 1995b.

Freire, Paulo. Educação e mudança. Rio de Janeiro: Paz e Terra, 1979 (12<sup>a</sup>ed.). p. 18.

Frontini, A; Bertolotti, P; Tonello, C; Valerio, A; Nisoli, E; Cinti, S; Giordano, A. Leptin-dependent STAT3 phosphorylation in postnatal mouse hypothalamus. *Brain Research*. v. 1215. p. 105-115. 2008.

Gao, Q; Mezei, G; Nie, Y; Rao, Y; Choi, CS; Bechmann, I; Leranth, C; Toran-Allerand, D; Priest, CA; Roberts, JL; Gao, XB; Mobbs, C; Shulman, GI; Diano, S; Horvath, TL. Anorectic estrogen mimics leptin's effect on the rewiring of melanocortin cells and Stat3 signaling in obese animals. *Nature Medicine*. v.13. n.1. p. 89-94. 2007.

Gao, Q; Wolfgang, MJ; Neschen, S; Morino, K; Horvath, TL; Shulman, GI; Fu, XY. Disruption of neural signal transducer and activator of transcription 3 causes obesity, diabetes, infertility, and thermal dysregulation. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United State of America*. v.101. n.13. p. 4661-4666. 2004.

Garcia, RA; Roemmich, JN; Claycombe, KJ. Evaluation of markers of beige adipocytes in white adipose tissue of the mouse. *Nutrition & Metabolism (London)*. v.13. n.24. 2016.

Gavériaux-Ruff, C; Kieffer, BL. Conditional gene targeting in the mouse nervous system: insights into brain function and diseases. *Pharmacology and Therapeutics*. v.113. n.3. p. 619-634. 2007.

Geary, N; Asarian, L; Korach, KS; Pfaff, DW; Ogawa, S. Deficits in E2-dependent control of feeding, weight gain, and cholecystokinin satiation in ER- $\alpha$  null mice. *Endocrinology*. v. 142. n.11. p. 4751-4757. 2001.

Giess, R; Mäurer, M; Linker, R; Gold, R; Warmuth-Metz, M; Toyka, KV. Sendtner, M; Rieckmann, P. Association of a null mutation in the CNTF gene with early onset of multiple sclerosis. *Archives of Neurology*. v.59. n.3. p.407-409. 2002.

Gloaguen, I; Costa, P; Demartis, A; Lazzaro, D; Di Marco, A; Graziani, R; Paonessa, G; Chen, F; Rosenblum, CI; Van der Ploeg, LHT; Cortese, R; Ciliberto, G; Laufer, R. Ciliary neurotrophic factor corrects obesity and diabetes associated with leptin deficiency and resistance. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United State of America*. v.94. n.12. p.6456-6461. 1997.

Gonçalves, GHM. Participação de ERK e STAT3 em neurônios SF1 do hipotálamo na homeostase energética. 2019. Tese de Doutorado (Clínica Médica) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

Gong, Y; Ishida-Takahashi, R; Villanueva, EC; Fingar, DC; Münzberg, H; Myers Jr, MG. The long form of the leptin receptor regulates STAT5 and ribosomal protein S6 via

alternate mechanisms. *The Journal of Biological Chemistry*. v.282. n.42. p31019-31027. 2007.

Grad, LI; Rouleau, GA; Ravits, J; Cashman, NR. Clinical spectrum of amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. v.7. n.8. p. 2017.

Grundy, SM. Metabolic syndrome scientific statement by the American Heart Association and the National Heart, Lung and Blood Institute. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. v.25. n.11. p. 2243-2244. 2005.

Guschin; D; Rogers, N; Briscoe, J; Witthuhn, B; Watling, D; Horn, F; Pellegrini, S; Yasukawa, K; Heinrich, P; Stark, GR. A major role for the protein tyrosine kinase JAK1 in the JAK/STAT signal transduction pathway in response to interleukin-6. *The EMBO Journal*. v.14. n.7. p.1421-1429. 1995.

Guthrie, KM; Woods, AG; Nguyen, T; Gall, CM. Astroglial ciliary neurotrophic factor mRNA expression is increased in fields of axonal sprouting in deafferented hippocampus. *Journal of Comparative Neurology*. v. 386. n.1. p. 137-148. 1997.

Hardiman, O; Al-Chalabi, A; Chio, A; Corr, EM; Logroscino, G; Robberecht, W; Shaw, PJ; Simmons, Z; Berg, LH. Amyotrophic lateral sclerosis. *Nature Reviews: Disease Primers*. v.3. n.17071. 2017.

Hardiman, O; Berg, LH; Kiernan, MC. Clinical diagnosis and management of amyotrophic lateral sclerosis. *Nature Reviews Neurology*. v.7. p. 639-649. 2011.

Harno, E; Cottrell, EC; White, A. Metabolic pitfalls of CNS Cre-based technology. *Cell Metabolism*. v.18. n.1. p. 21-28. 2013.

Heine, PA; Taylor, JA; Iwamoto, GA; Lubahn, DB; Cooke, PS. Increased adipose tissue in male and female estrogen receptor-alpha knockout mice. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United State of America*. v.97. n.23. p.12729-12734. 2000.

Hekerman, P; Zeidler, J; Baberg-Lemper, S; Knobelspies, H; Lavens, D; Tavernier, J; Joost, HG; Becker, W. Pleiotropy of leptin receptor signaling is defined by distinct roles of the intracellular tyrosines. *Federation of European Biochemical Societies Journal (FEBS J)*. v.272. n.1. p. 109-119. 2005.

Heymsfield, SB; Greenberg, AS; Fujioka, K; Dixon, RM; Kushner, R; Hunt, T; Lubina, JA; Patane, J; Self, B; Hunt, P; Mark McCamish. Recombinant leptin for weight loss in obese and lean adults: a randomized, controlled, dose-escalation trial. *Journal of the American Medical Association*. v.282. n.16. p. 1568-1575. 1999.

Hill, JW; Elias, CF; Fukuda, M Williams, KW; Berglund, ED; Holland, WL; Cho, YR; Chuang, JC; Xu, y; Choi, M; Lauzon, D; Lee, CE; Coppari, R; Richardson, JA; Zigman, JM; Chua, S; Scherer, PE; Lowell, BB; Brüning, JC Elmquist, JK. Direct insulin and leptin action on pro-opiomelanocortin neurons is required for normal glucose homeostasis and fertility. *Cell Metabolism*. v.11. n.4. p. 286-297. 2010.

Hoffman, V; Pöhlau, D; Przuntek, H; Epplen, JT; Hardt, C. A null mutation within the ciliary neurotrophic factor (CNTF)-gene: implications for susceptibility and disease severity in patients with multiple sclerosis. *Genes and Immunity*. v.3. n.1. p. 53-55. 2002.

Hommel, JD; Trinko, R; Sears, RM; Georgescu, D; Liu, Z-W; Gao, X-B; Thurmon, JJ; Marinelli, M; DiLeone, RJ. Leptin receptor signaling in midbrain dopamine neurons regulates feeding. *Neuron*. v.51. n.6. p. 801-810. 2006.

Huang, EJ; Reichardt, LF. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annual Review of Neuroscience*. v.24. p. 677-736. 2001.

Hubry, A. Hu, F.B. The Epidemiology of Obesity: a big picture. *Pharmacoeconomics*. v. 33. n.7. p. 673-689. 2015.

Hubschle, T; Thom, E; Watson, A; Roth, J; Klaus, S; Meyerhof, W. Leptin-induced translocation of STAT3 immunoreactivity in hypothalamic nuclei involved in body weight regulation. *Journal of Neuroscience*. v.21. n.7.p. 2413-2424. 2001.

Human Protein Atlas. Brain tissue expression of CNTF. Disponível em: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000242689-CNTF/brain>. Acesso em: 20 de dezembro de 2019.

Human Protein Atlas. Brain tissue expression of CNTFR. Disponível em: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000122756-CNTFR/brain>. Acesso em: 20 de dezembro de 2019.



Human Protein Atlas. Tissue expression of CNTF. Disponível em: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000242689-CNTF/tissue>. Acesso em: 20 de dezembro de 2019.

Ip, NY; McClain, J; Barrezueta, NX; Aldrich, TH; Pan, L; Li, Y; Wiegand, SJ; Friedman, B; Davis, S; Yancopoulos, GD. The  $\alpha$  componente of the CNTF receptor is required for signaling and defines potential CNTF targets in the adult and during development. *Neuron*. v.10. n.1. p.89-102. 1993.

Ip, NY; Nye, SH; Boulton, TG; Davis, S; Taga, T; Li, Y; Birren, SJ; Yasukawa, K; Kishimoto, T; Anderson, DJ; Stahl, N; Yancopoulos, GD. CNTF and LIF act on neuronal cells via shared signalling pathways that involve the IL-6 signal transducing receptor componente gp130. *Cell*. v.69. n.7. p.1121-1132. 1992.

Jahn, D; Kircher, S; Hermanns, HM; Geier, A. Animal models of NAFLD from a hepatologist's point of view. *Biochimica et Biophysica Acta: Molecular Basis of Disease*. v.1865. n.5. p. 943-953. 2019.

Janoschek, R; Plum, L; Koch, L; Münzberg, H; Diano, S; Shanabrough, M; Müller, W; Horvath, TL; Brüning, JC. gp130 signaling in proopiomelanocortin neurons mediates the acute anorectic response to centrally applied ciliary neurotrophic factor. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United State of America*. v.103. n.28. p.10707-10712. 2006.

Kallen, KJ; Grötzinger, J; Lelièvre, E; Vollmer, P; Aasland, D; Renné, C; Müllberg, J; Myer zum Büschenfelde, KH; Gascan, H; Rose-John, S. Receptor recognition sites of cytokines are organized as exchangeable modules. Transfer of the leukemia inhibitory factor receptor-binding site from ciliary neurotrophic factor to interleukin-6. *Journal of Biological Chemistry*. v.274. n.17. p. 11859-11867. 1999.

Kazim, SF; Blanchard, J; Dai, CL; Tung, YC; Grundke-Igbal, I; Igbal, K. Chronic treatment with CNTF-derived peptide reverses dendritic and synaptic plasticity deficits, cognitive impairment and tau pathology in Alzheimer's disease mouse model. *Alzheimer's & Dementia*, v. 9. n.4. p. 548. 2013

Kilkarni, RN; Wang, ZL; Wang, RM; Hurley, JD; Smith, DM; Ghatei, MA; Withers, DJ; Gardiner, JV; Bailey, CJ; Bloom, SR. Leptin rapidly supresses insulin release from

insulinoma cells, rat and human islets and, *in vivo*, in mice. *Journal of Clinical Investigation*. v.100. n.11. p. 2729-2736. 1997.

Kim, H; Baumann, H. Dual signaling role of the protein tyrosine phosphatase SHP-2 in regulating expression of acute-phase plasma proteins by interleukin-6 cytokine receptors in hepatic cells. *Molecular and Cellular Biology*. v.19. n.8. p. 5326-5338. 1999.

Kobayashi, K; Forte, TM; Taniguchi, S; Ishida, BY; Oka, K; Chan, I. The db/db mouse, a model for diabetic dyslipidemia: molecular characterization and effects of western diet feeding. *Metabolism*. v.49. n.1. p. 22-31. 2000.

Kokovea, MV; Yin, H; Flier, JS. Neurogenesis in the hypothalamus of adult mice: potential role in energy balance. *Science*. v.310. n.5748. p. 679-683. 2005.

Kordower, JH; Yaping, C; MacLennan, AJ. Ciliary neurotrophic factor receptor  $\alpha$ -immunoreactivity in the monkey central nervous system. *Journal of Comparative Neurology*. v.377. n.3. p. 365-380. 1997.

Krude, H; Biebermann, H; Luck, W; Horn, R; Brabant, G; Grüters, A. Severe early-onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by *POMC* mutations in humans. *Nature Genetics*. v.19. n.2. p.155-157. 1998.

Krude, H; Grüters, A. Implications of Proopiomelanocortin (POMC) mutations in humans: the POMC deficiency syndrome. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. v.11. n.1. p. 15-22. 2000.

Kühner, P; Clément, K; Wiegand, S; Blankstein, O; Gottesdiener, K; Martini, LL; Mai, K; Blume-Peytavi, U; Grüters, A; Krude, H. Proopiomelanocortin deficiency treated with a melanocortin-4 receptor agonist. *New England Journal of Medicine*. v.375. n.3. p. 240-246. 2016.

Kulkarni, RN; Wang, ZL; Wang, RM; Hurley, JD; Smith, DM; Ghatei, MA; Withers, DJ; Gardiner, JV; Bailey, CJ; Bloom, SR. Leptin rapidly suppresses insulin release from insulinoma cells, rat and human islets and, *in vivo*, in mice. *Journal of Clinical Investigation*. v.100. n.11. p. 2729-2736. 1997.

Kuminski, CM; Bickel, PE; Scherer, PE. Targeting adipose tissue in the treatment of obesity-associated diabetes. *Nature Reviews: Drug Discovery*. v.15. n.9. p. 639-660. 2016.

Kwon, O; Kang, ES; Kim, I; Shin, S; Kim, M Kwon, S; Oh, SR; Ahn, YS; Kim, CH. GPR30 mediate anorectic estrogen-induced STAT3 signaling in the hypothalamus. *Metabolism: Clinical and Experimental*. v.63. n.11. p.1455-1461. 2014.

Lai, CF; Ripperger, J; Morella, KK; Wang, Y; Gearing, DP; Horseman, ND; Campos, SP; Fey, GH; Baumann, H. STAT3 and STAT5B are targets of two different signal pathways activated by hematopoietin receptors and control transcription via separate cytokine response elements. *Journal of Biological Chemistry*. v.270. n.40. p. 23254-23257. 1995.

Lambert, PD; Anderson, KD; Sleeman, MW; Wong, V; Tan, J; Hijarunguru, A; Corcoran, TL; Murray, JD; Thabet, KE; Yancopoulos, GD; Wiegand, SJ. Ciliary neurotrophic factor activates leptin-like pathways and reduces body fat, without cachexia or rebound weight gain, even in leptin-resistant obesity. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United State of America*. v.98. n.8. p.4652-4657. 2001.

Langlet, F. Tanycytes: a gateway to the metabolic hypothalamus. *Journal of Neuroendocrinology*. v.26. n.11. p. 753-760. 2014.

Larsen, JV; Hansen, M; Moller, B; Madsen, P; Scheller, J; Nielsen, M; Petersen, CM. Sortilin facilitates signaling of ciliary neurotrophic factor and related helical type 1 cytokines targeting the gp10/leukemia inhibitory factor receptor beta heterodimer. *Molecular and Cellular Biology*. v.30. n.17. p. 4175-4187. 2010.

Lee, DA; Bedont, JL; Pak, T; Wang, H; Song, J; Miranda-Ângulo, A; Takiar, A; Charubhumi, V; Balordi, F; Takehashi, H; Aja, S; Ford, E; Fishell, G; Blackshaw, S. Tanycytes of the hypothalamic median eminence form a diet-responsive neurogenic niche. *Nature Neuroscience*. v.15. n.5. p. 700-702. 2012.

Lee, DA; Gross, L; Wittrock, DA; Windebank, AJ. Localization and expression of ciliary neurotrophic factor (CNTF) in postmortem sciatic nerve from patients with motor neuron disease and diabetic neuropathy. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*. v.55. n.8. p. 915-923. 1997.

Lee, GH; Proenca, R; Montez, JM; Carroll, KM. Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature*. v.379. n.6566. p.632-635. 1996.

Leibinger, M; Andreadaki, A; Fischer, D. Role of mTOR in neuroprotection and axon regeneration after inflammatory stimulation. *Neurobiology of Disease*. v.46. n.2. p. 314-324. 2012

Lelièvre, E; Plun-Favreau, H; Chevalier, S; Froger, J; Guillet, C; Elson, GCA; Gauchat, JF; Gascan, H. Signaling pathways recruited by the cardiotrophin-like cytokine / cytokine-like factor-1 composite cytokine: specific requirement of the membrane bound form of ciliary neurotrophic factor receptor  $\alpha$  component. *Journal of Biological Chemistry*.v.276. n.25. p. 22476-22484. 2001.

Li, MD. Leptin and beyond: an odyssey to the central control of body weight. *Yale Journal of Biology and Medicine*. v.84. n.1. p.1-7. 2011.

Li, S; Li, X. Leptin in normal physiology and leptin resistance. *Science Bulletin*. v.61. n.19. p.1480-1488. 2016.

Liu, I; Karkanias, GB; Morales, JC; Hawkins, M; Barzilai, N; Wang, J; Rossetti, L. Intracerebroventricular leptin regulates hepatic but not peripheral glucose fluxes. *Journal of Biological Chemistry*. v.273. n.47. p. 31160-31167. 1998.

Loh, K; Fukushima, A; Zhang, X; Galic, S; Briggs, D; Enriori, PJ; Simonds, S; Wiede, F; Reichenbach, A; Hauser, C; Sims, NA; Bence, KK; Zhang, S; Zhang, ZY; Kahn, BB; Neel, BG; Andrews, ZB; Cowley, MA; Tiganis, T. Elevated hypothalamic TCPTP in obesity contributes to cellular leptin resistance. *Cell Metabolism*. v.14. n.5. p. 684-699. 2011.

Luppino, FS; Wit, LM; Bouvy, PF; Stifnen, T; Cuijpers, P; Penninx, BWJH; Zitman, FG. Overweigh, obesity, and depression – A systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Archives of General Psychiatry*. v.67. n.3. p.220-229. 2010.

Lutticken, C; Wegenka, UM; Yuan, J; Buschmann, J; Schindler, C; Ziemiecki, A; Harpur, AG; Wilks, AF; Yasukada, K; Taga, T. Association of transcription factor APRF and protein kinase Jak1 with the interleukin-6 signal transducer gp130. *Science*. v.263. n.5143. p. 89-92. 1994.

Ma, D; Wang, Y; Zhou, G; Wang, Y; Li, X. Review: the roles and mechanisms of glycoprotein 130 cytokines in the regulation of adipocyte biological function. *Inflammation*. v.42. n.3. p. 790-798. 2019.

MacLennan, AJ; Vinson, EN; Marks, L; McLaurin, DL; Pfeifer, M; Lee, N. Immunohistochemical localization of ciliary neurotrophic receptor alpha expression in the rat nervous system. *Journal of Neuroscience*. v.16. n.2. p. 621-630. 1996.

Maffei, M; Hallas, J; Ravussin, E; Pratley, RE; Lee, GH; Zhang, Y; Fei, H; Kim, S; Lallone, R; Ranganathan, S; Kern, PA; Friedman, JM. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nature Medicine*. v.1. n.11. p. 1155-1161. 1995.

Marangon, PB; Silva, LE; Rorato, R; Gomiero Alves, P; Antunes-Rodrigues, J; Elias, LL. Oestradiol modulates the effects of leptina on energy homeostasis by corticotrophin-releasing factor type 2 receptor. *Journal of Neuroendocrinology*. v.26. n.11. p. 796-804. 2014.

Masiakowsky, P; Liu, H; Radziejewski, C; Lottspeich, F; Oberthuer, W; Wong, V; Lindsay, RM; Furth, ME; Panayotatos, N. Recombinant human and rat ciliary neurotrophic factors. *Journal of Neurochemistry*. v.57. n.3. p.1003-1012. 1991.

Matheny, M; Strehler, KYE; King, M; Tümer, N; Scarpace, PJ. Targeted leptin receptor blockade: role of VTA and NST leptin receptors in body weight homeostasis. *Journal of Endocrinology*. v.222. n.1. p. 27-41. 2014.

Mauvais-Jarvis, F; Clegg, DJ; Hevener, AL. The role of estrogens in control of energy balance and glucose homeostasis. *Endocrine Reviews*. v.34. n.3. p. 309-338. 2013

McDonald, NQ; Panayotatos, N; Hendrickson, WA. Crystal structure of dimeric human ciliary neurotrophic factor determined by MAD phasing. *The EMBO Journal*. v.14. n.12. p. 2689-2699. 1995.

Mercer, JG; Hoggard, N; Williams, LM; Lawrence, CB; Hannah, LT; Trayhurn, P. Localization of leptin receptor mRNA and the long form splice variante (Ob-Rb) in mouse hypothalamus and adjacent brain regions by in situ hybridization. *FEBS Letters*. v.387, n.2-3. p.113-116. 1996.

Merchenthaler, I; Lane, MV; Numan, S; Dellovade, TL. Distribution of estrogen receptor alpha and beta in the mouse central nervous system: in vivo autoradiographic and immunocytochemical analyses. *Journal of Comparative Neurology*. v.473. n.2. p. 270-291. 2004.

Milić,S; Lulić, D; Štimac, D. Non-alcoholic fatty liver disease and obesity: biochemical, metabolic and clinical presentations. *World Journal of Gastroenterology*. v.20. n.28. p. 9330-9337. 2014.

Miller, MM; Tousignant, P; Yang, U; Pedvis, S; Billiar, RB. Effects of age and long-term ovariectomy on the estrogen-receptor containing subpopulations of beta-endorphin-immunoreactive neurons in the arcuate nucleus of female C57BL/6J mice. *Neuroendocrinology*. v.61. n.5. p. 542-551. 1995.

Miller, RG; Bryan, WW; Dietz, MA; Munsat, TL; Petajan, JH; Smith, AS; Goodpasture, JC. Toxicity and tolerability of recombinant human ciliary neurotrophic factor in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology*. v.47. n.5, p. 1329-1331. 1996b.

Miller, RG; Petajam JH; Bryan, WW; Armon, C; Barohn, RJ; Goodpasture, JC; Hoagland, RJ; Parry, GJ; Ross, MA; Stromatt, SC; rhCNTF ALS Study Group. A placebo-controlled trial of recombinant human ciliary neurotrophic (rhCNTF) factor in amyotrophic lateral sclerosis. *Annals of Neurology*. v.39. n.2. p.256-260. 1996b. amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology*. v.47. n.5, p. 1329-1331. 1996a.

Ministério da Saúde. Esclerose lateral amiotrófica (ELA). Disponível em: <http://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/ela-esclerose-lateral-amiotrofica>. Acesso em: 31 de dezembro de 2019.

Morris, DL; Rui, L. Recent advances in understanding leptin signaling and leptina resistance. *American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism*. v. 297. n.6. p.E1247-E1259. 2009.

Münzberg, H; Björnholm, M; Bates, SH; Myers Jr, MG. Leptin receptor action and mechanisms of leptin resistance. *Cellular and Molecular Life Sciences*. v.62. n.6. p. 642-652. 2005.

Myers Jr, MG; Olson, DP. Central nervous system control of metabolism. *Nature*. v.491. n.7424. p. 357-363. 2012.

Narazaki, M; Witthuhn, BA; Yoshida, K; Silvennoinen, O; Yasukawa, K; Ihle, JN; Kishimoto, T; Taga, T. Activation of JAK2 kinase mediated by the interleukin 6 signal transducer gp130. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United State of America*. v.91. n.6, p. 2285-2289. 1994.

Neary, NM, Goldstone, AP; Bloom, SR. Appetite regulation: from gut to the hypothalamus. *Clinical Endocrinology*. v.60. n.2. p.153-160. 2004.

Nicolas, CS; Amici, M; Bortolotto, ZA; Doherty, A; Csaba, Z; Fafouri, A; Dournaud, P; Gressens, P; Collingridge, GL; Peineau, S. The role of JAK-STAT signaling within the CNS. *JAKSTAT*. v.2. n.1. p.22925. 2013.

Nilni, EA. The evolution from lean to obese state and the influence of modern human society. In: *Textbook of energy balance, neuropeptide, hormones, and neuroendocrine function*, Ed. Nilni, EA. 1ª edição. Springer Nature. p. 378-393. 2018.

Ogawa, S; Chan, J; Gustafsson, JA; Korach, KS.; Pfaff, DW. Estrogen increases locomotor activity in mice through estrogen receptor alpha: specificity for the type of activity. *Endocrinology*. v.144. n.1. p. 230-239. 2003.

Okura, T; Koda, M; Ando, F; Niino, N; Ohta, S; Shimokata, H. Association of polymorphisms in the estrogen receptor alpha gene with body fat distribution. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*. v.27. n.9. p. 1020-1027. 2003.

Pan, WW; Myers, MG. Leptin and the maintenance of elevated body weight. *Nature Reviews Neuroscience*. v.19. n.2. p.95-105. 2018.

Panayotatos, N; Everdeen, D; Liten, A; Somogyi, R; Acheson, A. Recombinant human CNTF receptor alpha: production, binding stoichiometry, and characterization of its activity as a diffusible factor. *Biochemistry*. v.33. n.19. p.5813-5818. 1994.

Panayotatos, N; Radziejewska, E; Acheson, A; Somogyi, R; Thadani, A; Hendrickson, WA; McDonald, NQ. Localization of functional receptor epitopes on the structure of ciliary

neurotrophic factor indicates a conserved, function-related epitope topography among helical cytokines. *J. Biol. Chem.* v.270. n.23. p. 14007-14014. 1995.

Parton, LE; Ye, CP; Coppari, R; Enriori, PJ; Choi, B; Zhang, CY; Xu, C; Vianna, CR; Balthasar, N; Lee, CE; Elmquist, JK; Cowley, MA; Lowell, BB. Glucose sensing by POMC neurons regulates glucose homeostasis and is impaired in obesity. *Nature.* v.449. n.7159. p. 228-232. 2007.

Pasquin, S; Sharma, M; Gauchat, JF. Ciliary neurotrophic factor (CNTF): new facets of an old molecule for treating neurodegenerative and metabolic syndrome pathologies. *Cytokine and Growth Factors Reviews.* v.26. n.5. p.507-515. 2015.

Patterson, CM; Leshan, RL; Jones, JC; Myers Jr; MG. Molecular mapping of mouse brain regions innervated by leptin receptor-expressing cells. *Brain Research.* v.1378. p. 18-28. 2011.

Peterson, WM; Wang, Q; Tzekova, R; Wiegand, SJ. Ciliary neurotrophic factor and stress stimuli activate the Jak-STAT pathway in retinal neurons and glia. *The Journal of Neuroscience.* v.20. n.11. p.4081-4090. 2000.

Pimentel, GD; Ganeshan, K; Carnevalheira, JB. Hypothalamic inflammation and the central nervous system control of energy homeostasis. *Molecular and Cellular Endocrinology.* v.397. n.1-2. p. 15-22. 2014.

Rahman, MH; Bhusal, A; Lee, WH; Lee, IK; Suk, K. Hypothalamic inflammation and malfunctioning glia in the pathophysiology of obesity and diabetes: translational significance. *Biochemical Pharmacology.* v.153. p. 123-133. 2018b.

Rahman, MH; Kim, MS; Lee, K; Yu, R; Suk, K. Interglial crosstalk in obesity-induced hypothalamic inflammation. *Frontiers in Neuroscience.* v.13. n.939. 2018a.

Rebouças, EC; Leal, S; Sá, SI. Regulation of NPY and  $\alpha$ -MSH expression by estradiol in the arcuate nucleus of Wistar female rats: a stereological study. *Neurological Research.* v.38. n.8. p. 740-747. 2016.



Rios, M. Neurotrophins and the regulation of energy balance and body weight. In: *Handbook of Experimental Pharmacology*, v.220 – *Neurotrophic Factors*, Eds. Lewin, GR; Carter, BD. 4ª edição. Guanabara Koogan. p. 283-307. 2018.

Rivera, HM; Stincic, TL. Estradiol and the control of feeding behavior. *Steroids*. v.133. p. 44-52. 2018.

Rodríguez, EM; Blázquez, JL; Guerra, M. The design of barriers in the hypothalamus allows the median eminence and the arcuate nucleus to enjoy private milieus: the former opens to the portal blood and the later to the cerebrospinal fluid. *Peptides*. v.31, p. 757-776. 2010.

Rodríguez, EM; Blázquez, JL; Pastor, FE; Peláez, B; Peña, P; Peruzzo, B; Amat, P. Hypothalamic tanycytes: a key component of brain-endocrine interaction. *International Review of Cytology*. v.249. p. 89-164. 2005.

Rogers, NH; Perfield 2<sup>nd</sup>, JW; Strissel, KJ; Obin, MS; Greenberg, AS. Reduced energy expenditure and increased inflammation are early events in the development of ovariectomy induced obesity. *Endocrinology*. v.150. n.5. p.2161-2168. 2009.

Roh, E; Song, DK; Kim, MS. Emerging role of the brain in the homeostatic regulation of energy and glucose metabolism. *Experimental & Molecular Medicine*. v.48. e.216. 2016.

Rosebaum, M; Sy, M; Pavlovich, K; Leibel, RL; Hirsch, J. Leptin reverses weight loss-induced changes in regional neural activity responses to visual food stimuli. *Journal of Clinical Investigation*. v.118. n.7. p. 2583-2591. 2008.

Rossi, MA; Stuber, GD. Overlapping brain circuits for homeostatic and hedonic feeding. *Cell Metabolism*. v.27, n.1, p.42-56. 2018.

Sahu, A. Leptin signaling in the hypothalamus: emphasis on energy homeostasis and leptin resistance. *Frontiers in neuroendocrinology*. v.24. n.4. p.225-253. 2003.

Schwartz, MW; Seeley, RJ; Campfield, LA; Burn, P; Baskin, DG. Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus. *Journal of Clinical Investigation*. v.98. n.5. p. 1101-1106. 1996.

Schwartz, MW; Woods, SC; Porte Jr, D; Seeley, RJ; Baskin, DG. Central nervous system control of food intake. *Nature*. v.404. n.6778. p.661-671. 2000.

Scott, KM; McGee, MA; Wells, E; Oakley Browne, MA. Obesity and mental disorders in the adult general population. *Journal of Psychosomatic Research*. v.64. n.1. p.97-105. 2008.

Severi, I; Carradori, MR; Lorenzi, T; Amici, A; Cinti, S; Giordano, A. Constitutive expression of ciliary neurotrophic factor in mouse hypothalamus. *Journal of Anatomy*. v.220. n.6. p.622-631. 2012.

Severi, I; Senzacqua, M; Mondini, E; Fazioli, F; Cinti, S; Giordano, A. Activation of transcription factors STAT1 and STAT5 in the mouse median eminence after systemic ciliary neurotrophic factor administration. *Brain Research*. v.1622. p.217-229. 2015.

Sharma, G; Hu, C; Brigman, JL; Zhu, G; Hathaway, HJ; Prossnitz, ER. GPER deficiency in male mice results in insulin resistance, dyslipidemia, and a proinflammatory state. *Endocrinology*. v.154. n.11. p. 4136-4145. 2013.

Sherling, DH; Perumareddi, P; Hennekens, C. Metabolic Syndrome: Clinical and policy implications of the new silent killer. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*. v.22. n.4. p.365-367. 2017.

Shi, H; Strander, AD; Sorrell, JE; Chambers, JB; Wood, SC; Seeley, RJ. Sexually different actions of leptin in Proopiomelanocortin neurons to regulate glucose homeostasis. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism*. v.294. n.3. p. E630-E639. 2008.

Shioda, S; Funahashi, H; Nakajo, S; Yada, T; Maruta, O; Nakai, Y. Immunohistochemical localization of leptin receptor in the rat brain. *Neuroscience Letters*. v.243. n.1-3. p. 41-44. 1998.

Siddiqui, S. Obesity and diabetes: interrelationship. *Advances in Obesity Weight Management & Control*. v.8. n. 2. p.155-158. 2018.

Silva, LE; Castro, M; Amaral, FC; Antunes-Rodrigues, J; Elias, LL. Estradiol-induced hypophagia is associated with the differential mRNA expression of hypothalamic

neuropeptides. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. v.43. n.8. p. 759-766. 2010.

Sleeman, MW; Anderson, KD; Lambert, PD; Yancopoulos, GD; Wiegand, SJ. The ciliary neurotrophic factor and its receptor, CNTFR $\alpha$ . *Pharmaceutica Acta Helvetiae*. v.74. n.2-3. p. 265-272. 2000.

Sleeman, MW; Garcia, K; Liu, R; Murray, JD; Malinova, L; Moncrieffe, M; Yancopoulos, GD; Wiegand, SJ. Ciliary neurotrophic factor improves diabetic parameters and hepatic steatosis and increases basal metabolic rate in db/db mice. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United State of America*. v.100. n.24. p.14297-14302. 2003.

Stachowiak, G; Pertyński, T; Pertyński-Marczewska, M. Metabolic disorders in menopause. *Przegland Menopauzalny: Menopause Review*. v.14. n.1. p. 59-64. 2015.

Stahl, N; Boulton, TG; Farruggella, T; Ip, NY; Davis, D; Witthuhn, BA; Quelle, FW; Silvennoinen, O; Barbieri, G; Pellegrini, S; Ihle, JN; Yancopoulos, GD. Association and activation of Jak-Tyk kinases by CNTF-LIF-OSM-IL-6 beta receptor components. *Science*. v.263, n.5143, p.92-95. 1994.

Stahl, N; Farruggella, TJ; Boulton, TG; Zhong, Z; Darnell Jr., JE; Yancopoulos, GD. Choice of STATs and other substrates specified by modular tyrosine-based motifs in cytokine receptors. *Science*. v.267. n.5202. p.1349-1353. 1995.

Stahl, N; Yancopoulos, GD. The tripartite CNTF receptor complex: activation and signaling involves componentes shared with other cytokines. *Journal of Neurobiology*. v.25. n.11. p. 1454-1466. 1994.

Stefater, MA; MacLennan AJ; Lee, N; Patterson, CM; Haller, A; Sorrell, J; Myers M; Woods, SC; Seeley, RJ. The anorectic effect of CNTF does not require action in leptin-responsive neurons. *Endocrinology*. v.153. n.6. p. 2647-2654. 2012.

Steinberg, GR; Watt, MJ; Fam, BC; Proietto, J; Andrikopoulos, S; Allen, AM; Febbraio, MA; Kemp, BE. Ciliary neurotrophic factor suppresses hypothalamic AMP-kinase signaling in leptin-resistant obese mice. *Endocrinology*. v.147. n.8. p. 3906-3914. 2006.

Steinberg, GR; Watt, MJ; Ernst, M; Birnbaum, MJ; Kemp, BE; Jørgensen, SB. Ciliary neurotrophic factor stimulates muscle glucose uptake by a PI3-kinase dependent pathway that is impaired in obesity. *Diabetes*. v.58. n.4. p. 829-839. 2009.

Steyn, FJ; Ngo, ST; Chen, VP; Bailey-Downs, LC; Xie, TY; Ghadami, M; Brimijoin, S; Freeman, WM; Rubinstein, M; Low, MJ; Stout, MB. 17 $\alpha$ -estradiol acts through hypothalamic pro-opiomelanocortin expressing neurons to reduce feed behavior. *Aging Cell*. v.17. n1, e12703. 2018.

Stöckli, KA; Lillien, LE; Naher-Noe, M; Beitzfeld, G; Hughes, RA; Raff, MC; Thoenen, H; Sendtner, M. Regional distribution, developmental changes, and cellular localization of CNTF-mRNA and protein in the rat brain. *Journal of Cell Biology*. v.115. n.2. p. 447-459. 1991.

Stöckli, KA; Lottspeich, F; Sendtner, M; Masiakowski, P; Carrol, P; Gotz, R; Lindholm, D; Thoenen, H. Molecular cloning, expression and regional distribution of rat ciliary neurotrophic factor. *Nature*. v.342. n.6252. p. 920-923. 1989.

Timper, K; Brüning, JC. Hypothalamic circuits regulating appetite and energy homeostasis: pathways to obesity. *Disease Models & Mechanisms*. v.10, p.679-689, 2017.

Toth, MJ; Sites, CK; Eltabbakh, GH; Poehlman, ET. Effect of menopausal status on insulin-stimulated glucose disposal: comparison of middleaged premenopausal and early postmenopausal women. *Diabetes Care*. v.23. n.6. p.801-806. 2000.

Trémollières FA, Pouilles JM, Ribot CA. Relative influence of age and menopause on total and regional body composition changes in postmenopausal women. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. v.175. n.6. p. 1594-1600. 1996.

Vacher, C-M; Créin, D; Aubourg, A; Couvreur, O; Bailleux, V; Nicolas, V; Férézou, J; Gripois, D; Gertler, A; Taouis, M. A putative physiological role of hypothalamic CNTF in the control of energy homeostasis. *Federation of European Biochemical Societies Letters*. v.582, n.27, p.3832-3838. 2008.

Vaisse, C; Halaas, JL; Horvath, CM; Darnell Jr; JE; Stoffel, M; Friedman, JM. Leptin activation of Stat3 in the hypothalamus of wild-type and ob/ob mice but not db/db mice. *Nature Genetics*. v.14. n.1. p. 95-97. 1996.

Vanni, E; Bugianesi, E; Kotronen, A; De Minicis, S; Yki-Järvinen, H; Svegliati-Baroni, G. From the metabolic syndrome to NAFLD or vice versa? *Digestive and Liver Disease*. v.42. n.5. p. 320-330. 2010.

Venâncio, JC; Margatho, LO; Rorato, R; Rosales, RRC; Debarba, LK; Coletti, R; Antunes-Rodrigues, J; Elias, CF; Elias, LLK. Short-term high-fat diet increases leptin activation of CART neurons and advances puberty in female mice. *Endocrinology*. v.158. n.11. p. 3929-3942. 2017.

Wang, A; Luo, J; Moore, W; Alkhalidy, H; Wu, L; Zhang, J; Zhen, W; Wang, Y; Clegg, DJ; Xu, B; Cheng, Z; McMillan, RP; Hulver, MW; Liu, D. GPR30 regulates diet-induced adiposity in female mice and adipogenesis in vitro. *Scientific Reports*. v.6. n.34302. 2016.

Watt, MJ; Dzamko, N; Thomas, WG; Rose-John, S; Ernst, M; Carling, D; Kemp, BE; Febbraio, MA; Steinberg, GR. CNTF reverses obesity-induced insulin resistance by activating skeletal muscle AMPK. *Nature Medicine*. v.12. n.5. p.541-548. 2006.

Wegenka, UM; Lutticken, C; Buschmann, J; Yuan, J; Lottspeich, F; Muller-Esterl, W; et al. The interleukin-6-activated acute-phase response factor is antigenically and functionally related to members of the signal transducer and activator of transcription (STAT) family. *Molecular and Cellular Biology*. v.14. p.3186-3196. 1994.

White, CL; Whittington, A; Barnes, MJ; Wang, Z; Bray, GA; Morrison, CD. HF diets increase hypothalamic PTP1B and induce leptin resistance through both leptin-dependent and -independent mechanisms. *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism*. v.296. n.2. p. E291-E299. 2009.

White, DW; Kuropatwinski, KK; Devos, R; Baumann, H; Tartaglia, LA. Leptin receptor (OB-R) signaling. Cytoplasmic domain mutational analysis and evidence for receptor homo-oligomerization. *Journal of Biological Chemistry*. v.272. n.7. p. 4065-4071. 1997.

Williams, LM. Hypothalamic dysfunction in obesity. *Proceedings of the Nutrition Society*. v.71. n.4. p.521-533. 2012.

Witte, MM; Resuehr, D; Chandler, AR; Mehle, AK; Overton, JM. Female mice and rats exhibit species-specific metabolic and behavioral responses to ovariectomy. *General and Comparative Endocrinology*. v.166. n.3. p. 520-528. 2010.

World Health Organization. 2017a. Global Health Observatory (GHO) data: Overweight and obesity. Disponível em: [http://www.who.int/gho/ncd/risk\\_factors/overweight/en/](http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/overweight/en/). Acesso em: 26 de outubro de 2017.

World Health Organization. 2017b. Global Health Observatory (GHO) data: Overweight and obesity. Disponível em: [https://www.who.int/gho/ncd/risk\\_factors/overweight\\_obesity/obesity\\_adults/en/](https://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/overweight_obesity/obesity_adults/en/). Acesso em: 10 de outubro de 2019.

World Health Organization. 2019. Obesity and overweight. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>. Acesso em: 16 de julho de 2019.

Xu, AW; Kaelin, CB; Morton, GJ; Ogimoto, K; Stanhope, K; Graham, J; Baskin, DG; Havel, P; Schwartz, MW; Barsh, GS. Effects of hypothalamic neurodegeneration on energy balance. *PLoS One*. v.3, n.12, p.e415. 2005.

Xu, AW; Ste-Marie, L; Kaelin, CB; Barsh, GS. Inactivation of signal transducer and activator of transcription 3 in Proopiomelanocortin (Pomc) neurons causes decreased Pomc expression, mild obesity, and defects in compensatory refeeding. *Endocrinology*. v.148. n.1. p. 72-80. 2007.

Xu, B; Xie, X. Neurotrophic factor control of satiety and body weigh. *Nature Reviews Neurosciences*. v.17. n.5. p.282-292. 2016.

Xu, J; Bartolome, CL; Low, CS; Yi, X; Chien, CH; Wang, P; Kong, D. Genetic identification of leptin neural circuits in energy and glucose homeostasis. *Nature*.v.556. n.7702. p. 505-509.2018.

Xu, Y; Nedungadi, TP; Zhu, L; Sobhani, N; Irani, BG; Davis, KE; Zhang, X; Zou, F; Gent, LM; Hahner, LD; Khan, AS; Elias, CF; Elmquist. Distinct hypothalamic neurons mediate estrogenic effects on energy homeostasis and reproduction. *Cell Metabolism*.v.14. n.4. p. 453-465. 2011.

Yaswen, L; Diehl, N; Brennan, MB; Hochgeschwender, U. Obesity in the mouse model of pro-opiomelanocortin deficiency responds to peripheral melanocortin. *Nature Medicine*. v.5, n.9, p.1066-1070. 1999.

Yu, YH. Making sense of metabolic obesity and hedonic obesity. *Journal of Diabetes*. v.9. n.7. p. 656-666. 2017.

Yu, YH; Vasselli, JR; Zhang, Y; Mechanick, JI; Korner, J; Peterli, R. Metabolic vs hedonic obesity: a conceptual distinction and its clinical implications. *Obesity Reviews*. v.16. n.3. p. 234-247. 2015.

Zhou, Y; Rui, L. Leptin signaling and leptin resistance. *Frontiers of Medicine*. v.7. n.2. p. 207-222. 2013.

Zhu, L; Xu, P; Cao, X; Yang, Y; Hinton, AO; Xia Y; Saito, K; Yan, X; Zou, F; Ding, H; Wang, C; Yan, C; Saha, P; Khan, SA; Zhao, J; Fukuda, M; Tong, Q; Clegg, DJ; Chan, L; Xu, Y. The ER $\alpha$ -PI3K cascade in Proopiomelanocortin progenitor neurons regulates feeding and glucose balance in female mice. *Endocrinology*. v.156. n.12. p. 4474-4491. 2015.

Ziotopoulou, M; Erani, DM; Hileman, SM; Bjøbaek; C; Mantzoros, CS. Unlike leptina, ciliary neurotrophic fator does not reverse the starvation-induced changes of sérum corticosterone and hypothalamic neuropeptide levels but induces expression of hypothalamic inhibitors of leptin signaling. *Diabetes*. v.49. n.11. p. 1890-1896. 2000.

## **Apêndices**



**APÊNDICE A** – Peso corporal (g) de camundongos machos  $STAT3^{Fl/Fl}$  e  $POMC-cre^{(cre/+)}$ ;  $STAT3^{Fl/Fl}$  alimentados com RD (3 a 18 semanas).

**Tabela 5.** Peso corporal (g) de camundongos machos  $STAT3^{Fl/Fl}$  alimentados com RD.

Animal	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>															
	Semanas															
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<b>1</b>	15,61	17,14	19,89	22,17	23,89	25,81	27,71	28,84	29,30	30,26	30,98	30,55	31,32	31,47	31,70	31,93
<b>2</b>	8,57	11,27	14,86	18,54	22,16	23,13	24,33	25,24	26,75	26,99	27,18	26,34	26,67	27,50	28,18	28,42
<b>3</b>	11,33	14,55	17,61	19,28	20,92	22,01	22,77	22,93	24,60	25,03	24,85	23,69	24,92	25,72	25,89	25,77
<b>4</b>	9,76	8,90	11,95	14,86	16,43	17,56	18,81	19,32	20,19	20,94	20,80	18,86	19,92	21,25	22,67	21,40
<b>5</b>	11,08	12,93	17,60	19,41	21,39	22,22	22,87	23,44	24,31	24,28	24,33	24,96	24,42	25,05	25,20	25,66
<b>6</b>	8,01	12,25	15,98	18,74	20,08	21,78	22,50	23,59	23,64	24,11	23,82	24,17	25,02	25,89	25,73	25,78
<b>7</b>	10,28	19,50	21,30	23,70	24,22	24,95	26,01	26,68	27,60	27,36	26,51	27,36	27,52	28,78	28,97	29,58
<b>Média</b>	10,66	13,79	17,03	19,53	21,30	22,49	23,57	24,29	25,20	25,57	25,50	25,13	25,68	26,52	26,91	26,93
<b>EPM</b>	0,94	1,36	1,18	1,07	0,99	1,01	1,08	1,15	1,13	1,12	1,20	1,36	1,31	1,21	1,11	1,28

**Tabela 6.** Peso corporal (g) de camundongos machos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>F1/F1</sup> alimentados com RD.

POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>F1/F1</sup>																
Animal	Semanas															
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<b>1</b>	21,13	24,43	26,30	27,35	28,09	30,32	31,82	32,32	32,32	33,27	34,91	33,10	34,68	35,40	35,65	35,58
<b>2</b>	12,54	16,59	21,65	23,88	25,72	26,70	27,57	28,67	29,36	29,82	30,22	30,16	30,94	31,87	31,87	32,36
<b>3</b>	13,40	16,88	21,35	24,48	26,28	28,30	28,88	29,70	31,59	32,31	33,67	33,91	34,08	35,01	35,74	36,28
<b>4</b>	12,90	15,69	19,56	22,55	24,73	26,02	27,83	28,86	28,88	29,39	30,47	30,55	30,97	31,54	31,97	31,42
<b>5</b>	13,52	20,84	24,17	26,55	27,21	28,36	29,10	29,79	30,69	29,09	30,64	31,38	32,22	33,25	33,16	33,56
<b>6</b>	9,39	12,13	17,20	21,10	23,97	25,03	26,33	27,24	27,90	28,55	28,38	30,18	31,12	31,58	31,51	31,74
<b>7</b>	7,94	9,18	12,55	17,25	22,97	25,61	26,73	29,08	29,27	30,97	29,85	31,77	33,25	33,79	33,38	34,38
<b>8</b>	9,02	13,31	19,56	22,92	24,94	26,48	27,77	29,64	29,59	30,17	29,75	31,08	32,25	32,25	32,89	33,38
<b>9</b>	7,97	11,61	17,30	20,20	20,91	21,89	22,47	23,77	24,19	24,91	24,65	25,72	25,98	26,05	26,30	26,80
<b>Média</b>	11,98	15,63	19,96	22,92	24,98	26,52	27,61	28,79	29,31	29,83	30,28	30,87	31,72	32,30	32,50	32,83
<b>EPM</b>	1,38	1,59	1,36	1,05	0,73	0,79	0,84	0,77	0,79	0,80	0,98	0,77	0,85	0,92	0,93	0,93

**APÊNDICE B** – Peso corporal (g) de camundongos fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD (3 a 18 semanas).

**Tabela 7.** Peso corporal (g) de camundongos fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.

Animal	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>															
	Semanas															
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<b>1</b>	10,91	12,62	14,50	15,40	17,47	17,48	19,17	19,55	20,11	20,40	20,51	20,08	21,02	20,80	21,42	21,81
<b>2</b>	9,90	11,24	13,09	13,98	15,48	16,82	19,00	18,28	19,90	18,56	18,94	18,64	18,89	19,36	19,48	19,73
<b>3</b>	10,50	12,06	14,70	16,70	19,35	19,46	20,59	21,80	22,17	21,86	22,38	21,54	22,26	23,13	22,89	23,80
<b>4</b>	10,63	12,30	14,62	15,35	17,20	18,40	19,56	19,45	19,86	20,63	21,30	21,74	21,08	21,92	21,59	21,67
<b>5</b>	8,74	12,30	16,98	18,23	19,70	20,36	20,89	20,89	21,57	22,39	22,40	22,04	22,07	22,98	22,95	23,55
<b>6</b>	8,81	8,50	8,53	10,99	15,51	18,82	18,65	19,48	20,32	20,14	20,20	21,65	22,18	22,32	22,87	23,72
<b>7</b>	8,09	10,31	14,41	16,62	18,83	19,90	20,90	21,00	22,02	22,00	20,80	22,35	23,02	23,13	23,71	25,42
<b>8</b>	13,14	15,18	18,96	20,79	21,61	21,60	22,27	23,71	24,04	24,63	22,23	24,53	24,25	24,82	25,21	26,28
<b>Média</b>	10,09	11,81	14,47	16,01	18,14	19,11	20,13	20,52	21,25	21,33	21,10	21,57	21,85	22,31	22,52	23,25
<b>EPM</b>	0,57	0,68	1,07	1,03	0,75	0,55	0,44	0,60	0,52	0,64	0,43	0,60	0,56	0,59	0,60	0,75

**Tabela 8.** Peso corporal (g) de camundongos fêmeas POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.

POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>																
Animal	Semanas															
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<b>1</b>	12,23	15,16	18,71	20,80	22,98	25,28	26,69	27,23	28,26	29,17	28,93	30,42	30,40	30,39	31,64	31,70
<b>2</b>	9,24	12,30	16,99	20,41	23,37	24,78	26,86	27,47	28,53	29,79	30,25	30,48	30,56	30,72	31,42	31,64
<b>3</b>	9,43	10,32	18,70	20,76	21,40	23,26	24,04	25,39	27,09	26,86	26,73	27,20	28,38	28,76	28,91	28,80
<b>4</b>	7,87	9,44	14,13	17,90	19,66	21,30	23,46	24,96	24,97	25,97	25,86	26,49	27,57	27,57	27,94	28,94
<b>5</b>	9,55	13,80	19,20	22,42	25,43	25,28	26,82	27,34	28,27	28,87	28,23	30,10	30,70	30,66	32,07	31,88
<b>6</b>	8,65	12,13	18,46	22,03	23,86	24,44	26,08	26,45	26,94	27,61	26,27	27,86	29,00	29,05	29,90	30,97
<b>7</b>	12,57	13,82	17,90	22,32	25,56	26,57	26,27	26,46	27,56	27,93	28,93	29,68	30,34	30,05	30,98	30,96
<b>8</b>	9,07	9,98	15,85	21,07	22,05	25,53	27,25	27,21	27,25	28,75	28,23	28,68	30,08	30,60	31,44	31,65
<b>Média</b>	9,83	12,12	17,49	20,96	23,04	24,56	25,93	26,56	27,36	28,12	27,93	28,86	29,63	29,73	30,54	30,82
<b>EPM</b>	0,59	0,73	0,61	0,51	0,71	0,57	0,50	0,33	0,40	0,45	0,53	0,55	0,41	0,41	0,52	0,44

**APÊNDICE C** – Peso corporal (g) de camundongos machos STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com HFD (3 a 18 semanas).

**Tabela 9.** Peso corporal (g) de camundongos machos STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com HFD.

Animal	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>															
	Semanas															
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<b>1</b>	9,63	15,33	20,68	21,77	24,15	26,00	28,33	29,50	31,63	33,96	36,25	39,01	41,46	42,86	44,36	45,55
<b>2</b>	10,20	18,15	21,56	24,40	28,04	31,78	34,73	38,73	40,68	43,03	44,22	46,12	47,02	48,10	47,74	48,87
<b>3</b>	10,65	17,48	21,79	24,44	28,41	32,05	36,00	39,96	42,62	44,36	45,74	46,95	47,70	48,12	48,22	49,08
<b>4</b>	7,57	13,72	19,76	20,91	23,08	25,19	26,34	27,77	29,83	31,39	32,03	33,43	34,38	36,44	36,09	36,04
<b>5</b>	8,23	14,00	19,40	21,80	24,05	26,20	29,36	31,68	33,24	35,36	37,65	38,68	41,82	43,14	44,71	45,70
<b>6</b>	14,97	23,22	25,16	28,03	30,39	32,98	35,32	36,96	39,13	41,20	42,98	44,54	45,17	45,33	46,90	46,51
<b>7</b>	14,84	20,79	22,90	25,58	28,60	31,57	33,39	35,15	37,50	39,17	40,00	41,07	42,25	43,90	44,21	45,10
<b>Média</b>	10,87	17,53	21,61	23,85	26,67	29,40	31,92	34,25	36,38	38,35	39,84	41,40	42,83	43,98	44,60	45,26
<b>EPM</b>	1,12	1,34	0,75	0,96	1,08	1,29	1,45	1,77	1,84	1,85	1,84	1,82	1,70	1,50	1,55	1,65

**Tabela 10.** Peso corporal (g) de camundongos machos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>F1/F1</sup> alimentados com HFD.

POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>F1/F1</sup>																
Animal	Semanas															
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<b>1</b>	9,41	14,85	20,91	23,97	27,55	29,30	30,98	32,61	34,23	35,39	36,89	38,19	39,31	40,31	40,72	41,63
<b>2</b>	8,85	16,10	22,82	25,90	27,08	28,23	29,93	31,04	32,65	35,65	36,90	38,36	38,42	40,51	41,48	42,48
<b>3</b>	9,17	15,62	23,48	27,88	29,09	31,74	34,37	35,98	38,20	40,87	42,81	44,07	45,03	46,21	46,90	47,71
<b>4</b>	8,92	17,16	25,95	29,12	30,93	32,64	34,85	37,15	39,75	42,17	43,76	45,29	46,05	47,67	47,69	49,42
<b>5</b>	9,48	16,33	25,84	29,25	32,39	34,78	37,00	39,69	41,37	43,39	44,74	45,78	46,80	46,91	47,06	48,30
<b>6</b>	6,53	12,65	19,09	21,98	24,53	26,50	28,69	31,16	33,60	34,67	35,04	36,50	39,18	39,34	41,34	41,91
<b>7</b>	9,80	18,71	26,29	28,07	30,78	32,83	35,75	38,67	40,81	41,30	43,36	45,21	44,94	46,21	47,58	48,65
<b>8</b>	10,22	18,59	25,52	29,15	30,56	33,89	36,88	40,42	42,28	42,91	43,76	46,15	47,31	48,41	48,17	50,49
<b>Média</b>	9,05	16,25	23,74	26,92	29,11	31,24	33,56	35,84	37,86	39,54	40,91	42,44	43,38	44,45	45,12	46,32
<b>EPM</b>	0,39	0,73	0,94	0,96	0,91	1,03	1,15	1,34	1,36	1,30	1,38	1,42	1,32	1,32	1,16	1,30

**APÊNDICE D** – Peso corporal (g) de camundongos fêmeas  $STAT3^{Fl/Fl}$  e  $POMC-cre^{(cre/+)}$ ;  $STAT3^{Fl/Fl}$  alimentados com HFD (3 a 18 semanas).

**Tabela 11.** Peso corporal (g) de camundongos fêmeas  $STAT3^{Fl/Fl}$  alimentados com HFD.

Animal	$STAT3^{Fl/Fl}$															
	Semanas															
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<b>1</b>	9,23	15,15	18,35	19,50	21,58	24,80	26,40	29,84	31,40	34,74	35,28	37,36	39,48	40,59	40,17	41,92
<b>2</b>	8,26	13,49	17,22	19,19	21,14	22,17	24,03	26,74	28,78	30,18	31,30	33,48	35,70	37,10	38,13	39,50
<b>3</b>	8,83	14,06	17,51	19,53	21,85	23,66	25,96	28,91	31,40	33,84	34,60	37,10	37,83	39,77	40,21	41,23
<b>4</b>	13,85	19,32	20,51	23,02	25,65	29,02	32,02	33,41	35,40	37,18	37,32	40,27	41,45	42,77	43,21	43,52
<b>5</b>	8,34	13,50	16,91	17,98	19,51	21,92	23,53	23,41	25,58	27,55	29,67	30,41	31,41	31,51	33,30	34,24
<b>6</b>	8,25	13,39	16,72	17,84	19,27	21,56	22,19	24,20	25,96	27,08	29,47	30,91	32,93	34,13	34,35	35,18
<b>7</b>	9,37	13,52	15,91	17,47	18,54	20,36	20,30	21,16	20,00	23,80	25,97	27,63	27,69	28,51	29,96	31,00
<b>Média</b>	9,45	14,63	17,59	19,22	21,08	23,36	24,92	26,81	28,36	30,62	31,94	33,88	35,21	36,34	37,05	38,08
<b>EPM</b>	0,75	0,82	0,56	0,71	0,90	1,09	1,42	1,60	1,90	1,82	1,50	1,72	1,83	1,96	1,76	1,76

**Tabela 12.** Peso corporal (g) de camundongos fêmeas POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com HFD.

POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>																
Animal	Semanas															
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<b>1</b>	7,08	14,03	20,12	22,97	24,75	26,81	28,44	30,20	31,30	32,80	33,74	35,45	37,50	39,25	39,56	40,06
<b>2</b>	8,56	15,78	23,65	26,47	28,37	30,29	33,64	36,47	38,02	40,36	40,89	41,84	42,73	44,11	45,02	46,66
<b>3</b>	7,47	14,17	21,21	25,20	26,73	28,66	29,44	31,64	33,25	35,13	36,36	38,52	39,80	41,42	43,08	44,78
<b>4</b>	9,60	17,09	22,93	26,88	27,57	29,00	31,32	31,86	32,96	34,80	36,16	37,34	40,57	43,02	44,57	44,88
<b>5</b>	8,70	15,82	22,95	25,73	27,77	30,52	32,07	33,00	34,18	35,93	37,77	38,38	39,56	40,70	42,24	44,09
<b>6</b>	9,99	17,00	23,12	24,56	26,92	29,10	30,51	31,80	33,20	35,38	35,32	39,22	40,55	41,68	44,23	46,13
<b>7</b>	9,08	16,24	22,96	25,80	27,23	28,27	28,98	30,39	31,26	33,46	33,36	34,69	35,43	36,27	36,78	38,00
<b>Média</b>	8,64	15,73	22,42	25,37	27,05	28,95	30,63	32,19	33,45	35,41	36,23	37,92	39,45	40,92	42,21	43,51
<b>EPM</b>	0,40	0,46	0,488	0,49	0,44	0,47	0,70	0,80	0,86	0,92	0,97	0,91	0,89	0,97	1,14	1,22



**APÊNDICE E** – Ingestão semanal acumulada (g) de camundongos machos STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD (3 a 18 semanas).

**Tabela 13.** Ingestão alimentar acumulada (g) de camundongos machos STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.

Animal	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>															
	Semanas															
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<b>1</b>	17,80	43,57	68,13	94,47	120,71	147,22	176,32	205,44	235,67	267,46	296,79	323,90	349,12	376,16	402,83	429,86
<b>2</b>	15,53	31,12	55,11	78,70	108,32	135,86	161,94	188,98	217,55	245,06	271,01	294,90	322,29	350,79	379,04	407,75
<b>3</b>	19,78	40,19	62,79	87,91	110,98	133,60	154,78	178,74	202,52	226,71	248,43	275,07	297,83	322,40	347,37	373,97
<b>4</b>	7,54	24,09	42,16	62,74	82,97	102,35	120,68	140,85	159,66	178,77	194,86	215,80	235,23	255,88	275,43	297,54
<b>5</b>	16,63	39,56	63,91	89,81	114,71	139,99	164,69	191,06	217,64	243,90	270,76	298,98	323,28	348,89	376,55	403,04
<b>6</b>	17,52	38,85	63,92	86,95	110,30	134,28	157,94	181,38	204,77	225,27	251,90	275,12	298,46	321,83	346,37	373,36
<b>7</b>	20,00	46,91	75,28	101,73	127,23	151,70	176,26	201,10	222,94	243,87	267,54	290,63	315,11	341,34	367,45	391,99
<b>Média</b>	16,40	37,76	61,61	86,04	110,7	135,0	158,9	183,9	208,7	233,0	257,3	282,1	305,9	331,0	356,4	382,5
<b>EPM</b>	1,60	2,92	3,97	4,71	5,27	6,02	7,16	8,05	9,19	10,48	11,99	12,69	13,49	14,36	15,38	16,01

**Tabela 14.** Ingestão alimentar acumulada (g) de camundongos machos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.

POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>																
Animal	Semanas															
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<b>1</b>	28,73	56,22	85,82	114,39	144,11	173,31	204,15	232,90	262,88	292,91	317,85	343,27	372,49	400,30	429,27	458,26
<b>2</b>	19,59	45,03	77,46	105,24	131,08	155,29	180,76	205,62	232,05	259,11	283,02	305,36	329,76	354,36	380,20	404,32
<b>3</b>	18,11	44,69	75,59	106,45	136,82	163,16	187,82	217,63	242,03	272,84	299,12	326,32	355,45	383,20	410,30	435,06
<b>4</b>	17,01	39,20	63,42	90,75	115,60	139,39	163,39	187,33	211,05	237,77	260,32	285,98	309,06	332,75	355,36	380,62
<b>5</b>	25,17	53,09	82,65	110,32	138,22	162,34	188,00	212,28	236,82	266,36	292,43	317,86	343,04	370,50	396,93	422,32
<b>6</b>	17,70	40,94	69,77	99,32	125,31	150,75	174,20	198,49	223,25	247,32	274,43	300,30	326,76	349,68	373,60	396,07
<b>7</b>	12,52	26,89	51,26	80,32	111,59	138,84	167,87	194,27	223,05	247,50	277,26	305,94	333,72	360,27	386,34	413,61
<b>8</b>	19,36	45,80	76,80	105,70	133,16	158,52	186,62	212,22	238,28	261,86	288,67	315,85	344,69	370,43	396,29	422,71
<b>9</b>	16,56	39,42	66,66	93,25	119,94	145,59	174,41	203,03	230,60	254,05	280,52	306,02	338,34	363,31	384,77	407,25
<b>Média</b>	19,42	43,48	72,16	100,6	128,4	154,1	180,8	207,1	233,3	260,0	286,0	311,9	339,3	365,0	390,3	415,6
<b>EPM</b>	1,61	2,84	3,55	3,60	3,67	3,86	4,14	4,53	4,86	5,45	5,46	5,48	6,01	6,51	7,12	7,55

**APÊNDICE F** – Ingestão alimentar acumulada (g) de camundongos fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD (3 a 18 semanas).

**Tabela 15.** Ingestão alimentar acumulada (g) de fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.

Animal	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>															
	Semanas															
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<b>1</b>	17,08	37,52	55,27	76,90	94,49	115,50	137,14	159,28	180,86	203,90	225,39	250,39	271,13	295,20	320,22	345,73
<b>2</b>	16,74	37,52	59,58	79,99	100,15	120,58	140,92	163,54	186,53	208,57	230,68	252,84	271,37	291,38	313,71	334,81
<b>3</b>	14,58	35,58	57,07	82,54	105,70	128,56	154,52	180,91	206,97	232,93	256,54	283,26	307,43	331,12	356,18	380,69
<b>4</b>	17,71	40,24	64,02	89,32	115,09	139,62	163,97	187,00	210,34	233,92	255,55	278,67	296,22	318,63	343,95	364,78
<b>5</b>	18,54	42,53	66,86	92,04	116,23	141,06	162,93	186,73	211,04	233,06	260,08	285,08	309,85	333,09	358,20	382,53
<b>6</b>	12,26	23,25	41,03	62,09	83,88	105,80	126,32	148,12	169,45	187,50	210,05	232,59	253,87	273,50	295,03	313,90
<b>7</b>	16,63	39,19	96,19	124,44	148,43	172,25	195,39	219,64	244,15	264,97	289,04	314,42	340,07	363,14	389,05	412,47
<b>8</b>	16,25	43,43	71,49	96,99	121,89	146,77	170,67	195,52	215,97	233,81	257,80	277,75	301,26	321,78	346,29	367,03
<b>Média</b>	16,22	37,41	63,94	88,04	110,7	133,8	156,5	180,1	203,2	224,8	248,1	271,9	293,9	316,0	340,3	362,7
<b>EPM</b>	0,70	2,23	5,62	6,43	6,96	7,38	7,73	8,04	8,33	8,46	8,77	9,03	9,69	10,03	10,49	10,91

**Tabela 16.** Ingestão alimentar acumulada (g) de camundongos fêmeas POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.

POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>																
Animal	Semanas															
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<b>1</b>	18,65	43,84	70,46	101,72	130,02	156,98	182,84	210,93	240,45	265,32	292,63	318,98	343,29	368,80	395,61	424,14
<b>2</b>	17,47	42,51	74,47	106,52	136,18	166,01	195,04	226,46	256,51	287,86	317,06	345,52	372,59	400,77	428,19	456,28
<b>3</b>	13,48	40,33	67,74	93,49	120,83	149,64	176,53	205,81	233,49	257,32	285,38	311,18	336,06	361,92	389,16	416,53
<b>4</b>	13,47	38,83	68,57	96,92	124,77	153,13	176,95	200,69	225,62	248,15	276,45	302,75	325,33	349,43	375,72	400,37
<b>5</b>	23,22	54,25	89,87	121,13	147,72	177,42	205,92	233,62	264,32	288,66	315,70	345,42	374,83	402,53	429,19	455,57
<b>6</b>	17,44	44,29	77,49	107,36	133,22	159,54	185,23	212,67	239,36	260,30	287,92	312,88	336,84	360,05	384,66	408,82
<b>7</b>	14,96	39,42	65,82	96,60	126,07	152,62	177,06	202,13	226,03	248,26	274,04	301,66	326,71	349,53	372,89	395,51
<b>8</b>	11,04	33,82	62,15	86,63	116,56	145,70	167,85	192,22	215,60	238,18	261,91	283,25	307,80	330,38	354,89	378,53
<b>Média</b>	16,22	42,16	72,07	101,3	129,4	157,6	183,4	210,6	237,7	261,8	288,9	315,2	340,4	365,4	391,3	417,0
<b>EPM</b>	1,35	2,09	3,06	3,72	3,45	3,58	4,26	4,85	5,76	6,50	6,87	7,59	8,17	8,88	9,23	9,79

**APÊNDICE G** – Ingestão semanal acumulada (g) de camundongos machos  $STAT3^{Fl/Fl}$  e  $POMC-cre^{(cre/+)}$ ;  $STAT3^{Fl/Fl}$  alimentados com RD (3 a 18 semanas).

**Tabela 17.** Ingestão semanal acumulada (g) de camundongos machos  $STAT3^{Fl/Fl}$  alimentados com HFD.

Animal	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>															
	Semanas															
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<b>1</b>	13,27	27,44	40,97	55,29	71,29	86,17	100,72	116,23	133,18	149,18	166,33	182,73	197,90	214,84	231,51	-
<b>2</b>	13,62	26,69	42,04	59,04	77,13	93,47	110,44	126,74	142,48	157,76	174,23	189,38	205,26	220,63	238,09	255,67
<b>3</b>	17,28	31,77	47,67	66,08	84,77	103,50	122,68	140,26	155,80	172,55	189,29	205,17	221,86	239,43	257,03	275,73
<b>4</b>	10,31	23,93	36,80	13,75	28,25	41,13	54,29	67,84	83,55	96,92	111,34	124,16	137,19	148,39	161,29	175,91
<b>5</b>	10,16	23,97	37,21	51,83	67,03	83,07	98,20	113,99	129,84	149,80	164,60	181,15	198,66	215,96	235,70	255,24
<b>6</b>	17,90	33,41	50,28	65,76	82,26	97,93	113,31	129,27	146,00	161,61	176,91	192,73	207,89	224,94	224,94	246,47
<b>7</b>	16,40	31,40	47,08	63,59	80,63	97,45	113,18	130,23	147,03	161,97	177,86	195,02	212,40	228,93	245,08	261,70
<b>Média</b>	14,13	28,37	43,15	53,62	70,19	86,10	101,8	117,8	134,0	150,0	165,8	181,5	197,3	213,3	227,7	245,1
<b>EPM</b>	1,20	1,45	2,02	6,95	7,38	7,95	8,51	8,98	9,03	9,34	9,59	10,02	10,49	11,27	11,72	14,40

**Tabela 18.** Ingestão alimentar acumulada (g) de camundongos machos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com HFD.

POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>																
Animal	Semanas															
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<b>1</b>	12,65	28,08	44,92	61,95	77,14	92,82	107,75	122,86	137,92	153,17	170,78	186,40	204,03	219,17	235,64	252,56
<b>2</b>	13,87	31,01	48,17	62,30	75,84	90,58	105,21	120,49	138,31	162,68	165,36	186,75	206,99	227,68	245,90	263,05
<b>3</b>	11,13	27,47	45,03	59,81	76,69	94,17	110,19	126,48	143,83	161,58	178,89	195,48	212,76	231,42	254,23	272,62
<b>4</b>	17,52	36,66	54,01	68,82	83,71	100,32	116,99	134,43	151,73	169,90	187,54	205,75	223,99	242,07	262,43	281,80
<b>5</b>	16,84	38,61	57,15	76,47	98,79	118,11	136,05	153,14	171,06	188,58	206,56	223,66	247,36	264,24	283,82	302,41
<b>6</b>	10,88	25,05	39,64	54,08	69,99	85,35	100,46	117,62	131,73	147,31	167,99	186,37	201,36	221,79	237,75	-
<b>7</b>	13,95	32,96	50,91	66,50	83,78	102,54	120,06	139,77	156,49	175,54	193,45	226,04	257,59	280,46	301,77	-
<b>8</b>	14,42	32,52	51,88	71,27	90,38	110,30	130,03	150,50	169,06	187,83	207,68	227,15	247,01	265,65	290,19	-
<b>Média</b>	13,91	31,55	48,96	65,15	82,04	99,27	115,8	133,2	150,0	168,3	184,8	204,7	225,1	244,1	264,0	274,5
<b>EPM</b>	0,85	1,64	2,01	2,50	3,25	3,84	4,38	4,8	5,19	5,34	5,93	6,54	7,93	8,18	8,89	8,51

**APÊNDICE H** – Ingestão alimentar acumulada (g) de camundongos fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD (3 a 18 semanas).

**Tabela 19.** Ingestão alimentar acumulada (g) de camundongos fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com HFD.

Animal	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>															
	Semanas															
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<b>1</b>	12,96	25,49	38,38	53,08	69,28	84,77	102,63	117,48	135,56	149,87	166,74	183,45	198,86	213,28	230,79	247,93
<b>2</b>	11,18	24,08	37,03	50,82	64,14	78,85	95,42	112,98	129,14	144,41	161,55	178,82	196,94	213,55	231,27	248,26
<b>3</b>	11,71	24,88	37,22	51,49	65,50	80,93	97,60	115,03	131,57	146,83	163,69	178,40	195,23	209,23	225,93	242,18
<b>4</b>	17,38	32,68	46,62	62,53	79,58	96,35	112,28	128,84	145,80	159,78	176,69	193,50	209,66	224,58	239,37	256,31
<b>5</b>	12,44	26,72	38,14	50,17	63,64	76,04	86,55	101,59	124,39	143,12	158,23	174,43	185,06	211,49	226,29	241,60
<b>6</b>	12,60	25,86	38,29	49,96	66,19	78,11	91,80	106,00	120,13	135,46	151,14	166,98	178,18	202,89	216,62	231,42
<b>7</b>	13,38	27,35	38,77	50,17	62,61	73,41	86,41	99,42	112,67	127,42	143,51	155,95	170,01	183,56	198,21	213,59
<b>Média</b>	13,09	26,72	39,21	52,60	67,28	81,21	96,10	111,6	128,5	143,8	160,2	175,9	190,6	208,4	224,1	240,2
<b>EPM</b>	0,77	1,08	1,26	1,70	2,21	2,87	3,49	3,86	4,07	3,90	4,06	4,53	5,12	4,80	5,03	5,29

**Tabela 20.** Ingestão alimentar acumulada (g) de camundongos fêmeas POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com HFD.

POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>																
Animal	Semanas															
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<b>1</b>	13,48	31,80	48,81	64,66	80,60	96,05	112,66	127,60	144,79	160,79	178,14	195,18	211,31	225,14	241,36	259,95
<b>2</b>	17,66	41,06	58,22	73,86	89,89	107,79	125,14	142,74	161,11	176,76	192,68	208,49	225,22	241,69	259,95	277,90
<b>3</b>	12,68	35,32	57,67	73,47	91,30	107,89	129,12	151,97	165,13	187,19	205,09	221,55	241,56	258,23	277,12	296,08
<b>4</b>	15,59	34,73	52,22	66,74	80,75	95,11	108,49	123,83	140,09	155,33	170,90	187,74	206,44	222,84	238,44	255,50
<b>5</b>	15,57	29,37	48,73	69,38	90,80	105,73	119,22	133,51	147,68	164,07	179,62	196,79	215,34	231,03	248,59	266,18
<b>6</b>	16,10	36,57	53,28	68,14	93,32	118,12	137,22	160,81	182,65	216,89	244,08	263,66	284,39	301,80	318,58	343,07
<b>7</b>	15,31	33,29	50,11	63,37	77,00	91,05	105,88	120,29	137,20	151,90	168,35	184,27	199,91	215,40	232,94	249,85
<b>Média</b>	15,20	34,59	52,72	68,52	86,24	103,1	119,7	137,3	154,1	173,3	191,3	208,2	226,3	242,3	259,6	278,4
<b>EPM</b>	0,63	1,41	1,49	1,53	2,48	3,57	4,34	5,73	6,16	8,63	10,04	10,40	10,96	11,25	11,34	12,27



**APÊNDICE I** – Taxa de eficiência alimentar (FER) de camundongos machos e fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD ou HFD (3 a 18 semanas).

**Tabela 21.** Taxa de eficiência alimentar (FER) de camundongos machos e fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.

Animal	Machos		Fêmeas	
	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>
<b>1</b>	0,041	0,034	0,034	0,049
<b>2</b>	0,052	0,052	0,031	0,052
<b>3</b>	0,042	0,056	0,037	0,050
<b>4</b>	0,042	0,052	0,032	0,056
<b>5</b>	0,039	0,050	0,041	0,052
<b>6</b>	0,051	0,060	0,051	0,058
<b>7</b>	0,053	0,068	0,045	0,049
<b>8</b>	-	0,061	0,038	0,064
<b>9</b>	-	0,049	-	-
<b>Média</b>	0,046	0,054	0,037	0,0538
<b>EPM</b>	0,002	0,003	0,002	0,002

**Tabela 22.** Taxa de eficiência alimentar (FER) de camundongos machos e fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com HFD.

Animal	Machos		Fêmeas	
	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>
<b>1</b>	0,155	0,137	0,142	0,137
<b>2</b>	0,162	0,137	0,135	0,147
<b>3</b>	0,150	0,152	0,143	0,135
<b>4</b>	0,177	0,154	0,124	0,148
<b>5</b>	0,159	0,137	0,114	0,142
<b>6</b>	0,140	0,149	0,124	0,113
<b>7</b>	0,123	0,129	0,109	0,124
<b>8</b>	-	0,139	-	-
<b>Média</b>	0,152	0,142	0,127	0,135
<b>EPM</b>	0,007	0,003	0,005	0,005

**APÊNDICE J** – Glicemia (mg/dL) de camundongos machos e fêmeas  $STAT3^{Fl/Fl}$  e  $POMC-cre^{(cre/+)}$ ;  $STAT3^{Fl/Fl}$  alimentados com RD ou HFD.

**Tabela 23.** Glicemia de camundongos machos  $STAT3^{Fl/Fl}$  e  $POMC-cre^{(cre/+)}$ ;  $STAT3^{Fl/Fl}$  alimentados com RD.

Animal	$STAT3^{Fl/Fl}$			$POMC-cre^{(cre/+)}$ ; $STAT3^{Fl/Fl}$		
	9 semanas	12 semanas	16 semanas	9 semanas	12 semanas	16 semanas
<b>1</b>	139	143	136	161	158	145
<b>2</b>	144	136	136	151	170	136
<b>3</b>	183	140	143	132	148	136
<b>4</b>	118	115	159	151	122	159
<b>5</b>	103	120	142	142	81	143
<b>6</b>	147	136	142	200	144	149
<b>7</b>	108	118	136	119	114	140
<b>8</b>	-	-	-	164	116	147
<b>9</b>	-	-	-	157	152	154
<b>Média</b>	134,6	129,7	142,0	153,0	133,9	145,4
<b>EPM</b>	10,45	4,39	3,08	7,580	9,26	2,60

**Tabela 24.** Glicemia de camundongos fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.

Animal	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>			POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>		
	9 semanas	12 semanas	16 semanas	9 semanas	12 semanas	16 semanas
<b>1</b>	103	123	133	131	136	128
<b>2</b>	133	119	106	117	137	135
<b>3</b>	154	136	116	138	191	136
<b>4</b>	124	125	154	154	157	141
<b>5</b>	151	161	115	148	140	131
<b>6</b>	140	137	138	174	149	133
<b>7</b>	148	124	134	137	171	140
<b>8</b>	-	-	-	153	189	140
<b>Média</b>	136,1	132,1	128,0	144,0	158,8	135,5
<b>EPM</b>	6,81	5,44	6,24	6,09	7,96	1,66

**Tabela 25.** Glicemia de camundongos machos STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com HFD.

Animal	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>			POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>		
	9 semanas	12 semanas	16 semanas	9 semanas	12 semanas	16 semanas
<b>1</b>	174	231	156	164	168	210
<b>2</b>	190	177	165	185	186	192
<b>3</b>	150	185	172	174	185	160
<b>4</b>	157	168	159	180	178	191
<b>5</b>	171	153	161	189	190	162
<b>6</b>	162	187	181	197	171	174
<b>7</b>	185	179	171	138	181	152
<b>8</b>	-	-	-	189	191	178
<b>Média</b>	169,9	182,9	166,4	177,0	181,3	177,4
<b>EPM</b>	5,51	9,13	3,31	6,63	2,99	6,89

**Tabela 26.** Glicemia de camundongos fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com HFD.

Animal	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>			POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>		
	9 semanas	12 semanas	16 semanas	9 semanas	12 semanas	16 semanas
<b>1</b>	173	167	145	190	167	200
<b>2</b>	149	176	140	163	171	158
<b>3</b>	170	194	158	165	144	168
<b>4</b>	177	163	156	137	165	162
<b>5</b>	192	180	171	157	163	208
<b>6</b>	192	144	161	162	162	161
<b>7</b>	148	150	158	180	139	165
<b>Média</b>	171,6	167,7	155,6	164,9	158,7	174,6
<b>EPM</b>	6,78	6,56	3,88	6,38	4,61	7,74

**APÊNDICE K** – Teste de tolerância à glicose (GTT) de camundongos machos e fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD (13 semanas).

**Tabela 27.** GTT de camundongos machos STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.

Animal	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>						POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>					
	Glicemia (mg/dL)						Glicemia (mg/dL)					
	0 min	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min	0 min	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
<b>1</b>	121	435	279	193	198	151	150	338	274	294	223	206
<b>2</b>	101	340	250	187	129	110	101	257	318	250	168	192
<b>3</b>	73	266	291	209	148	149	152	414	371	212	197	252
<b>4</b>	86	385	339	170	131	97	92	302	247	258	186	184
<b>5</b>	132	-	254	191	148	136	81	352	362	242	212	181
<b>6</b>	120	481	319	206	147	195	101	387	270	212	212	164
<b>7</b>	118	400	312	300	231	242	76	356	239	171	169	153
<b>8</b>	-	-	-	-	-	-	103	365	294	252	202	177
<b>9</b>	-	-	-	-	-	-	114	431	426	246	188	221
<b>Média</b>	107,3	384,5	292,0	208,0	161,7	154,3	107,8	355,8	311,2	237,4	195,2	192,2
<b>EPM</b>	8,08	30,62	12,65	16,09	14,41	18,88	9,027	17,91	21,11	11,66	6,40	10,10

**Tabela 28.** GTT de camundongos fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.

Animal	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>						POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>					
	Glicemia (mg/dL)						Glicemia (mg/dL)					
	0 min	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min	0 min	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
<b>1</b>	80	394	240	168	137	138	115	253	200	240	198	209
<b>2</b>	122	163	144	139	154	126	123	394	169	146	142	151
<b>3</b>	102	274	191	178	128	121	119	295	253	172	151	125
<b>4</b>	114	158	149	145	135	144	96	332	197	189	150	116
<b>5</b>	113	169	254	151	146	134	95	313	222	166	152	131
<b>6</b>	96	148	154	142	134	112	107	193	177	174	165	137
<b>7</b>	123	161	156	158	150	146	102	278	199	206	165	154
<b>8</b>	73	317	197	172	162	135	85	449	406	245	166	168
<b>Média</b>	102,9	223,0	185,6	156,6	143,3	132,0	105,3	313,4	227,9	192,3	161,1	148,9
<b>EPM</b>	6,63	32,97	15,08	5,20	4,11	4,11	4,65	28,34	27,06	12,56	6,11	10,46



**APÊNDICE L** – Teste de tolerância à insulina (ITT) de camundongos machos e fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD (14 semanas).

**Tabela 29.** ITT de camundongos machos STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.

Animal	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>						POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>					
	Glicemia (mg/dL)						Glicemia (mg/dL)					
	0 min	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min	0 min	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
<b>1</b>	110	88	70	67	69	88	165	93	99	79	80	99
<b>2</b>	120	83	91	87	91	172	129	112	90	75	72	81
<b>3</b>	129	90	80	57	38	42	162	110	91	94	111	115
<b>4</b>	120	185	156	123	147	150	160	260	224	180	200	186
<b>5</b>	126	96	70	63	81	91	208	214	274	255	179	195
<b>6</b>	137	117	80	58	33	114	129	85	84	71	108	137
<b>7</b>	150	169	108	94	114	125	113	169	163	186	190	190
<b>8</b>	-	-	-	-	-	-	151	126	114	92	102	120
<b>9</b>	-	-	-	-	-	-	134	101	98	109	169	200
<b>Média</b>	127,4	118,3	93,57	78,43	81,86	111,7	150,1	141,1	137,4	126,8	134,6	147,0
<b>EPM</b>	4,93	15,80	11,54	9,19	15,30	16,28	9,38	20,19	22,86	21,56	16,55	15,36

**Tabela 30.** ITT de camundongos fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.

Animal	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>						POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>					
	Glicemia (mg/dL)						Glicemia (mg/dL)					
	0 min	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min	0 min	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
<b>1</b>	108	90	78	60	72	138	133	114	93	71	80	94
<b>2</b>	117	74	81	72	84	138	139	92	79	68	137	197
<b>3</b>	139	80	72	61	72	112	126	100	81	63	79	110
<b>4</b>	128	66	61	57	74	154	125	105	122	66	66	92
<b>5</b>	119	79	53	64	70	98	133	83	80	79	118	123
<b>6</b>	117	155	125	110	161	127	126	76	64	61	133	171
<b>7</b>	115	105	77	68	119	160	132	97	86	73	109	142
<b>8</b>	122	107	68	38	22	132	100	88	68	42	45	81
<b>Média</b>	120,6	94,50	76,88	66,25	84,25	132,4	126,8	94,38	84,13	65,38	95,88	126,3
<b>EPM</b>	3,31	10,03	7,63	7,20	14,38	7,22	4,17	4,33	6,32	3,90	11,76	14,51

**APÊNDICE M** – Concentração sérica de insulina (ng/mL) de camundongos machos e fêmeas STAT3<sup>F1/F1</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>F1/F1</sup> alimentados com RD ou HFD.

**Tabela 31.** Concentração sérica de insulina (ng/mL) de camundongos machos e fêmeas STAT3<sup>F1/F1</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>F1/F1</sup> alimentados com RD.

Animal	Machos		Fêmeas	
	STAT3 <sup>F1/F1</sup>	POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>F1/F1</sup>	STAT3 <sup>F1/F1</sup>	POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>F1/F1</sup>
<b>1</b>	3,474	4,649	2,001	3,234
<b>2</b>	3,258	3,058	Range?	4,475
<b>3</b>	2,128	6,421	2,027	2,851
<b>4</b>	0,853	3,547	2,449	8,095
<b>5</b>	1,942	5,019	2,415	4,538
<b>6</b>	1,465	3,615	1,238	2,976
<b>7</b>	2,885	6,242	1,829	3,720
<b>8</b>	-	3,823	1,889	5,067
<b>9</b>	-	1,747	-	-
<b>Média</b>	2,286	4,236	1,978	4,370
<b>EPM</b>	0,365	0,503	0,154	0,603

**Tabela 32.** Concentração sérica de insulina (ng/mL) de camundongos machos e fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com HFD.

Animal	Machos		Fêmeas	
	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>
<b>1</b>	8,826	12,630	4,482	7,511
<b>2</b>	47,850	13,295	5,879	12,240
<b>3</b>	32,110	23,595	8,417	6,212
<b>4</b>	4,518	13,845	5,726	8,222
<b>5</b>	16,420	14,540	2,519	14,695
<b>6</b>	28,730	11,900	3,886	7,635
<b>7</b>	12,720	30,680	6,553	4,145
<b>8</b>	-	30,810	-	-
<b>Média</b>	21,60	18,91	5,352	8,666
<b>EPM</b>	5,796	2,888	0,727	1,364

**APÊNDICE N** – Concentração sérica de leptina (ng/mL) de camundongos machos e fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD ou HFD.

**Tabela 33.** Concentração sérica de leptina (ng/mL) de camundongos machos e fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.

Animal	Machos		Fêmeas	
	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>
<b>1</b>	4,61	11,20	1,49	14,36
<b>2</b>	1,15	8,07	0,37	13,18
<b>3</b>	0,89	12,35	1,64	8,61
<b>4</b>	0,52	7,67	3,50	9,04
<b>5</b>	1,48	16,65	2,67	12,76
<b>6</b>	1,22	7,39	1,99	14,92
<b>7</b>	2,74	13,30	2,26	15,84
<b>8</b>	-	10,57	4,31	16,86
<b>9</b>	-	0,68	-	-
<b>Média</b>	1,333	9,585	2,391	13,03
<b>EPM</b>	0,311	1,703	0,483	1,212

**Tabela 34.** Concentração sérica de leptina (ng/mL) de camundongos machos e fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com HFD.

Animal	Machos		Fêmeas	
	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>
<b>1</b>	59,55	65,49	88,45	82,38
<b>2</b>	64,61	59,62	56,62	95,98
<b>3</b>	86,29	76,52	78,84	79,44
<b>4</b>	25,31	67,81	100,05	89,31
<b>5</b>	86,65	65,79	59,05	117,05
<b>6</b>	86,86	121,77	75,66	88,31
<b>7</b>	54,69	72,28	52,64	70,10
<b>8</b>	-	86,54	-	-
<b>Média</b>	66,28	76,98	73,04	88,94
<b>EPM</b>	8,591	7,024	6,706	5,624

**APÊNDICE O** – Tecido adiposo retroperitoneal (TABr) de camundongos machos e fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.

**Tabela 35.** Peso absoluto do TABr (g) de camundongos machos e fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.

Animal	Machos		Fêmeas	
	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>
<b>1</b>	0,166	0,270	0,045	0,259
<b>2</b>	0,092	0,340	0,023	0,287
<b>3</b>	0,119	0,436	0,059	0,411
<b>4</b>	0,041	0,279	0,122	0,182
<b>5</b>	0,109	0,313	0,071	0,294
<b>6</b>	0,068	0,327	0,058	0,229
<b>7</b>	0,048	0,313	0,111	0,323
<b>8</b>	-	0,356	0,155	0,275
<b>9</b>	-	0,063	-	-
<b>Média</b>	0,092	0,230	0,0805	0,282
<b>EPM</b>	0,017	0,034	0,016	0,024

**Tabela 36.** Conteúdo de TABr (g) corrigido pelo peso corporal (PC) (g) de camundongos machos e fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.

Animal	Machos		Fêmeas	
	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>
<b>1</b>	0,005	0,008	0,002	0,008
<b>2</b>	0,003	0,010	0,001	0,009
<b>3</b>	0,004	0,012	0,002	0,014
<b>4</b>	0,002	0,009	0,005	0,006
<b>5</b>	0,004	0,009	0,003	0,009
<b>6</b>	0,002	0,010	0,002	0,007
<b>7</b>	0,002	0,009	0,005	0,010
<b>8</b>	-	0,010	0,006	0,009
<b>9</b>	-	0,002	-	-
<b>Média</b>	0,003	0,009	0,003	0,009
<b>EPM</b>	0,0004	0,0009	0,0006	0,0008



**APÊNDICE P** – Tecido adiposo retroperitoneal (TABr) de camundongos machos e fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com HFD.

**Tabela 37.** Peso absoluto do TABr (g) de camundongos machos e fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com HFD.

Animal	Machos		Fêmeas	
	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>
<b>1</b>	0,485	0,559	0,510	0,633
<b>2</b>	0,424	0,596	0,449	0,380
<b>3</b>	0,513	0,692	0,428	0,539
<b>4</b>	0,475	0,658	0,387	0,464
<b>5</b>	0,497	0,636	0,414	0,698
<b>6</b>	0,473	0,452	0,217	0,569
<b>7</b>	0,748	0,492	0,226	0,752
<b>8</b>	-	0,389	-	-
<b>Média</b>	0,516	0,559	0,376	0,576
<b>EPM</b>	0,040	0,037	0,042	0,049

**Tabela 38.** Conteúdo de TABr (g) corrigido pelo peso corporal (PC) (g) de camundongos machos e fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com HFD.

Animal	Machos		Fêmeas	
	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>
<b>1</b>	0,011	0,013	0,012	0,014
<b>2</b>	0,008	0,013	0,011	0,008
<b>3</b>	0,010	0,014	0,010	0,011
<b>4</b>	0,013	0,013	0,008	0,010
<b>5</b>	0,011	0,013	0,011	0,014
<b>6</b>	0,010	0,011	0,005	0,012
<b>7</b>	0,017	0,010	0,006	0,018
<b>8</b>	-	0,008	-	-
<b>Média</b>	0,011	0,012	0,009	0,0124
<b>EPM</b>	0,0011	0,0007	0,0010	0,0012

**APÊNDICE Q** – Fígado de camundongos machos e fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.

**Tabela 39.** Peso absoluto do fígado (g) de camundongos machos e fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD.

Animal	Machos		Fêmeas	
	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>
1	1,201	1,585	0,973	1,080
2	1,050	1,247	0,828	1,029
3	1,320	1,420	1,013	1,069
4	1,068	1,353	0,922	1,141
5	0,972	4,503	0,971	1,248
6	1,293	1,279	0,922	0,980
7	1,336	1,226	0,835	1,137
8	-	1,363	1,122	0,995
9	-	1,164	-	-
<b>Média</b>	1,177	1,682	0,948	1,085
<b>EPM</b>	0,060	0,355	0,034	0,031

**Tabela 40.** Conteúdo de fígado (g) corrigido pelo peso corporal (PC) (g) de camundongos machos e fêmeas  $STAT3^{Fl/Fl}$  e  $POMC-cre^{(cre/+)}; STAT3^{Fl/Fl}$  alimentados com RD.

Animal	Machos		Fêmeas	
	$STAT3^{Fl/Fl}$	$POMC-cre^{(cre/+)}; STAT3^{Fl/Fl}$	$STAT3^{Fl/Fl}$	$POMC-cre^{(cre/+)}; STAT3^{Fl/Fl}$
<b>1</b>	0,036	0,044	0,043	0,033
<b>2</b>	0,035	0,038	0,043	0,032
<b>3</b>	0,048	0,039	0,041	0,035
<b>4</b>	0,049	0,042	0,040	0,038
<b>5</b>	0,037	0,127	0,041	0,037
<b>6</b>	0,047	0,040	0,039	0,031
<b>7</b>	0,043	0,035	0,034	0,035
<b>8</b>	-	0,040	0,042	0,031
<b>9</b>	-	0,043	-	-
<b>Média</b>	0,042	0,050	0,040	0,034
<b>EPM</b>	0,002	0,010	0,001	0,001

**APÊNDICE R** – Fígado de camundongos machos e fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com HFD.

**Tabela 41.** Peso absoluto do fígado (g) de camundongos machos e fêmeas STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com HFD.

Animal	Machos		Fêmeas	
	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>	POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>
<b>1</b>	2,303	2,672	1,234	1,302
<b>2</b>	3,297	2,340	1,202	2,111
<b>3</b>	3,525	3,477	1,796	1,542
<b>4</b>	1,081	3,851	2,195	1,910
<b>5</b>	2,438	3,271	1,124	2,138
<b>6</b>	3,659	2,016	1,248	2,094
<b>7</b>	1,678	2,844	0,974	1,263
<b>8</b>	-	3,607	-	-
<b>Média</b>	2,569	3,010	1,396	1,766
<b>EPM</b>	0,369	0,229	0,164	0,147

**Tabela 42.** Conteúdo de fígado (g) corrigido pelo peso corporal (PC) (g) de camundongos machos e fêmeas  $STAT3^{Fl/Fl}$  e  $POMC-cre^{(cre/+)}; STAT3^{Fl/Fl}$  alimentados com HFD.

Animal	Machos		Fêmeas	
	$STAT3^{Fl/Fl}$	$POMC-cre^{(cre/+)}; STAT3^{Fl/Fl}$	$STAT3^{Fl/Fl}$	$POMC-cre^{(cre/+)}; STAT3^{Fl/Fl}$
<b>1</b>	0,051	0,061	0,029	0,029
<b>2</b>	0,066	0,052	0,029	0,044
<b>3</b>	0,070	0,070	0,042	0,032
<b>4</b>	0,030	0,076	0,044	0,040
<b>5</b>	0,052	0,066	0,030	0,043
<b>6</b>	0,074	0,048	0,031	0,042
<b>7</b>	0,038	0,058	0,027	0,029
<b>8</b>	-	0,071	-	-
<b>Média</b>	0,054	0,063	0,033	0,037
<b>EPM</b>	0,006	0,003	0,003	0,002

**APÊNDICE S** – Variação do peso corporal (g) de camundongos machos STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD e tratados com CNTF (0,1 µg/g, ip, 3x) ou salina – em relação ao primeiro dia de tratamento.

**Tabela 43.** Variação do peso corporal (g) de camundongos machos STAT3<sup>Fl/Fl</sup> que receberam CNTF ou salina.

STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>										
Animal	Salina					CNTF				
	24h	48h	72h	96h	120h	24h	48h	72h	96h	120h
<b>1</b>	-0,36	-0,32	-0,06	0,38	0,26	0,67	-1,39	-1,33	-1,15	-1,51
<b>2</b>	-0,07	-0,13	-0,11	-0,39	-0,63	-1,38	-2,29	-2,42	-2,51	-1,53
<b>3</b>	-0,45	-0,99	-0,43	-0,53	-0,52	-1,57	-2,61	-3,25	-2,47	-2,02
<b>4</b>	-0,33	-0,45	-0,30	-0,21	0,20	-1,15	-1,95	-2,33	-2,06	-1,39
<b>5</b>	0,04	0,12	0,37	0,65	0,42	-0,55	-1,35	-1,25	-0,68	-0,75
<b>6</b>	-0,07	-0,22	0,08	1,70	0,09	-1,56	-1,46	-1,92	-1,37	-1,6
<b>7</b>	-0,48	-0,02	-0,28	-1,11	-1,03	-0,26	-1,52	-1,04	-0,40	-0,56
<b>8</b>	-0,55	-0,09	-0,07	-0,23	-0,29	-0,18	0,05	-0,93	-0,53	-0,19
<b>9</b>	0,36	-0,12	-0,2	0,21	0,41	-	-	-	-	-
<b>Média</b>	-0,21	-0,25	-0,11	0,05	-0,12	-0,75	-1,57	-1,81	-1,40	-1,19
<b>EPM</b>	0,10	0,11	0,08	0,27	0,17	0,28	0,28	0,29	0,30	0,22

**Tabela 44.** Variação do peso corporal (g) de camundongos machos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>F1/F1</sup> que receberam CNTF ou salina.

POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>F1/F1</sup>										
Animal	Salina					CNTF				
	24h	48h	72h	96h	120h	24h	48h	72h	96h	120h
<b>1</b>	-0,15	0,00	0,10	0,37	0,56	-1,18	-1,71	-2,12	-1,96	-1,92
<b>2</b>	0,31	0,63	0,92	0,96	1,18	-1,21	-2,59	-3,19	-2,27	-2,27
<b>3</b>	0,10	0,14	-0,25	0,00	0,29	-1,04	-1,87	-2,50	-2,00	-1,30
<b>4</b>	0,07	-0,15	-0,37	0,07	-0,04	-1,09	-1,14	-1,76	-1,22	-1,47
<b>5</b>	0,06	-0,58	-0,22	-0,10	0,24	-1,10	-1,97	-2,94	-2,13	-2,08
<b>6</b>	0,22	0,52	0,39	0,85	0,74	-0,92	-1,65	-2,37	-1,72	-1,53
<b>7</b>	0,05	-0,24	0,10	-0,21	-0,44	-	-	-	-	-
<b>Média</b>	0,09	0,05	0,10	0,28	0,36	-1,09	-1,82	-2,48	-1,88	-1,76
<b>EPM</b>	0,05	0,16	0,17	0,18	0,20	0,04	0,19	0,21	0,15	0,16



**APÊNDICE T** – Ingestão alimentar acumulada (g) de camundongos machos STAT3<sup>Fl/Fl</sup> e POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>Fl/Fl</sup> alimentados com RD e tratados com CNTF (0,1 µg/g, ip, 3x) ou salina.

**Tabela 45.** Ingestão alimentar acumulada (g) de camundongos machos STAT3<sup>Fl/Fl</sup> que receberam CNTF ou salina.

STAT3 <sup>Fl/Fl</sup>										
Animal	Salina					CNTF				
	24h	48h	72h	96h	120h	24h	48h	72h	96h	120h
1	3,41	7,58	11,17	15,86	20,04	3,25	6,35	9,52	13,65	16,95
2	4,05	8,28	12,13	15,75	19,35	2,97	5,30	7,43	10,68	14,69
3	2,94	6,37	9,98	13,19	16,82	4,52	6,82	8,96	13,98	18,68
4	3,18	6,91	10,70	14,08	18,02	2,77	5,07	7,27	10,77	14,70
5	3,44	7,49	20,61	24,17	27,86	2,35	4,54	7,61	11,04	15,63
6	3,75	6,65	10,13	12,65	16,38	1,98	4,95	8,18	10,81	14,90
7	3,35	6,72	10,20	12,25	16,34	3,28	4,98	7,76	10,56	14,02
8	2,86	6,51	10,02	12,57	15,76	3,51	6,44	8,16	11,38	16,15
9	3,94	7,24	10,73	15,82	22,03	-	-	-	-	-
<b>Média</b>	3,44	7,08	11,74	15,15	19,18	3,08	5,56	8,11	11,61	15,72
<b>EPM</b>	0,14	0,21	1,13	1,23	1,28	0,27	0,30	0,28	0,49	0,54

**Tabela 46.** Ingestão alimentar acumulada (g) de camundongos machos POMC-cre<sup>(cre/+)</sup>; STAT3<sup>F1/F1</sup> que receberam CNTF ou salina.

POMC-cre <sup>(cre/+)</sup> ; STAT3 <sup>F1/F1</sup>										
Animal	Salina					CNTF				
	24h	48h	72h	96h	120h	24h	48h	72h	96h	120h
<b>1</b>	4,34	9,15	13,08	17,23	21,87	2,72	5,35	7,80	11,38	16,22
<b>2</b>	4,09	8,88	12,83	17,27	22,06	2,82	4,76	6,42	10,14	13,85
<b>3</b>	4,11	8,41	12,31	15,71	19,82	2,83	5,05	7,21	10,56	15,12
<b>4</b>	3,27	6,11	9,36	12,15	13,30	2,33	4,66	7,00	9,44	12,84
<b>5</b>	5,00	8,67	12,92	18,00	23,79	2,23	3,93	5,23	7,67	11,55
<b>6</b>	4,77	9,05	14,41	20,24	26,01	1,84	3,59	4,75	8,84	13,25
<b>7</b>	3,45	6,59	9,91	14,24	18,41	-	-	-	-	-
<b>Média</b>	4,15	8,12	12,12	16,41	20,75	2,46	4,56	6,40	9,67	13,81
<b>EPM</b>	0,24	0,47	0,69	1,00	1,56	0,16	0,27	0,48	0,54	0,68