

José Sinésio da Silva Junior

Estudo do papel da melatonina na variação diária da sinalização insulínica e do metabolismo energético em ratos espontaneamente diabéticos tipo 2 (Goto-Kakizaki)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Humana do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paul para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Fisiologia Humana

Orientador: Prof. Dr. José Cipolla Neto

Versão corrigida

**São Paulo
2021**

AGRADECIMENTOS ÀS AGÊNCIAS FINANCIADORAS DE PESQUISA

Ao CNPq (164969/2015-2) e à FAPESP pelo financiamento da minha bolsa e da presente pesquisa.

"O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e verba PROEX (Programa de Excelência Acadêmica)".

RESUMO

Silva-Junior, JS. **Estudo do papel da melatonina na variação diária da sinalização insulínica e do metabolismo energético em ratos espontaneamente diabéticos tipo 2 (Goto- Kakizaki)**. 2021. 89 f. Tese de doutorado (Fisiologia Humana) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo. 2021.

O presente estudo teve por objetivo avaliar a variação diária da via da sinalização insulínica e sua possível regulação pela suplementação de melatonina na dosagem de 3 mg/kg/dia, por três meses, em animais espontaneamente diabéticos do tipo 2 (Goto Kakizaki). Para tanto, os animais receberam melatonina diluída na água de bebedouros que ficaram disponíveis na fase de escuro do ciclo diário de iluminação por três meses, iniciando-se a partir da décima semana de vida. Os grupos experimentais controle, GK (Goto Kakizaki) e GK + Mel (Melatonina), alojados sob ciclo de claro-escuro, 12h: 12h, receberam água e alimento à vontade e ao final do experimento foram eutanasiados de 4 em 4 horas ao longo de 24 horas nos ZTs 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24 (ZT 12 = transição do claro para o escuro). Os resultados demonstram que a suplementação com melatonina não alterou o peso corporal, mas aumentou o consumo alimentar do grupo GK + Mel quando comparado com o grupo GK. A suplementação com melatonina não alterou as diferenças entre os pesos dos depósitos adiposos branco e marrom apresentadas pelos animais diabéticos em relação aos animais controle. O GTT e ITT apresentaram uma variação dependente do ZT analisado, sendo que no ZT 2 os grupos GK e GK + Mel apresentaram intolerância à glicose e resistência insulínica quando comparado com grupo controle. Por outro lado, no ZT 14, os animais GK + Mel apresentaram uma melhora significativa da tolerância à glicose e da sensibilidade insulínica quando comparado com o grupo GK. Quanto à análise da expressão gênica (qPCR) diária de alguns genes da via de sinalização insulínica no fígado, demonstrou-se que a expressão do gene do receptor de insulina (*Ir*) no grupo GK foi estatisticamente menor que a do grupo controle no ZT 24, possivelmente indicando que a resistência insulínica desse modelo experimental poderia ser a soma da hiperinsulinemia e a menor expressão gênica do receptor de insulina, ambos ocorridos no ZT 24. Já no músculo esquelético sóleo, a expressão gênica do *Ir* e *Slc2a4* foi significativamente menor nos animais diabéticos, corroborando com os dados encontrado no fígado. Em ambos os casos, o tratamento com melatonina não alterou o quadro apresentado pelo animal diabético. No entanto, quanto à expressão proteica da pAKT no fígado após estímulo com insulina, demonstrou-se que a suplementação com melatonina melhorou o estado de fosforilação do AKT no ZT 2, tornando-a similar ao grupo controle.

Com base nesses dados, podemos afirmar que a suplementação com melatonina foi capaz de melhorar os resultados do GTT e ITT no ZT 14 e o estado fosforilação da AKT do fígado no ZT 2, demonstrando assim que a melatonina pode ter um papel importante na regularização do quadro de resistência insulínica apresentada por esses animais.

Palavras Chave: Melatonina. Diabetes tipo 2. Sinalização insulínica. Variação circadiana.

ABSTRACT

Silva-Junior, JS. **Study of the role of melatonin in the daily variation of insulin signaling and energy metabolism in spontaneously diabetic type 2 rats (Goto-Kakizaki)**. 2021. 89 p. Doctoral thesis (Human Physiology) - Institute of Biomedical Sciences, University at São Paulo. 2021.

The present study aimed to assess the daily insulin signaling pathway and its regulation by melatonin supplementation at a dosage of 3 mg/kg/day, for three months, in spontaneously diabetic type 2 animals (Goto Kakizaki). For that, the animals received melatonin diluted in water from drinking fountains that were available in the dark phase of the daily lighting cycle, for three months, starting from the tenth week of life. The experimental groups Control, GK (Goto Kakizaki) and GK + Mel (Melatonin), housed under a light-dark cycle, 12h: 12h, received water and food at will and at the end of the experiment they were euthanized every 4 hours over 24 hours in ZT: 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24 (ZT 12 = transition from light to dark). The results demonstrate that melatonin supplementation did not alter body weight, but increased the food consumption of the GK + Mel group when compared to the GK group. The supplementation with melatonin didn't alters the differences between the weights of the white and brown adipose deposits presented by the diabetic animals in relation to the control animals. GTT and ITT showed a variation dependent on the analyzed ZT, and in ZT 2 the groups GK and GK + Mel showed tolerance to glucose and insulin when compared to the control group, on the other hand, in ZT 14, the animals GK + Mel showed a significant improvement in this tolerance when compared to the GK group. In addition, the GK and GK + Mel groups showed hyperinsulinemia in relation to the control group. Regarding the analysis of daily gene expression (qPCR) of some genes of the insulin signaling pathway in the liver, it was demonstrated that the expression of the insulin receptor (*Ir*) gene in the GK groups was

statistically lower than that of the control group in the ZT 24 , possibly indicating that the insulin resistance of this experimental model could be the sum of hyperinsulinemia and the lowest gene expression of the insulin receptor, both occurring in the ZT 24. In the soleus skeletal muscle, the *Ir* and *Slc2a4* gene expression was significantly lower in animals diabetics, corroborating with the data found in the liver. In both cases, treatment with melatonin didn't alter the condition presented by the diabetic animal. However, regarding the Western Blot results of pAKT in the liver after insulin stimulation, it was shown that melatonin supplementation improved AKT phosphorylation in ZT 2, making it like the control group. Based on these data, we can say that supplementation with melatonin was able to improve GTT and ITT in ZT 14 and the phosphorylation state of liver AKT in ZT 2, thus demonstrating that melatonin may have an important role in regularizing the condition insulin resistance presented by these animals.

Keywords: Melatonin. Type 2 diabetes. Insulin signaling. Circadian variation.

INTRODUÇÃO

A glândula pineal origina-se embriologicamente de uma evaginação dorsal do teto do terceiro ventrículo e, no cérebro adulto constitui, junto com os núcleos habenulares, a maior parte do epitélamo (EKSTRÖM; MEISSL, 2003).

Como mostrado na figura 1, em roedores a glândula pineal apresenta três porções distintas que formam o complexo pineal: pineal profunda, pedúnculo pineal e pineal superficial. A pineal profunda, ou lâmina intercalar, está localizada entre as comissuras posterior e habenular delimitando uma região ventricular chamada de recesso pineal, e da sua porção dorsal emerge o pedúnculo pineal que se comunica com a pineal superficial (MOLLER, 1992).

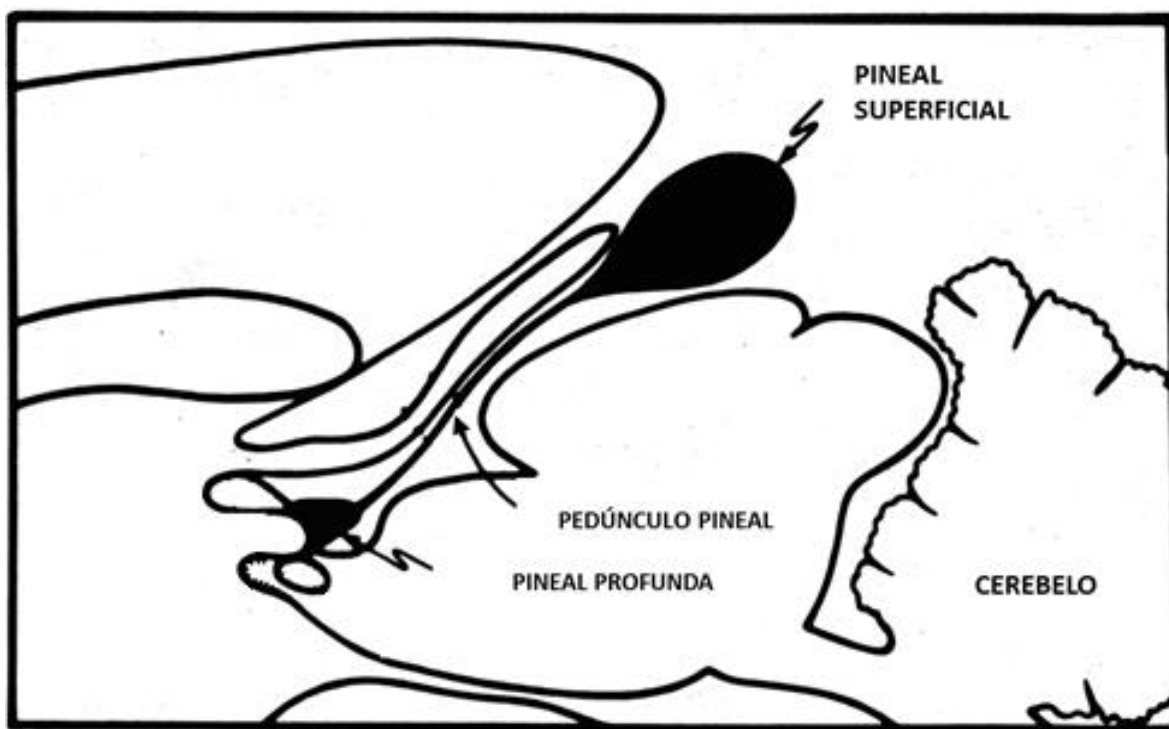


Figura 1 – Localização anatômica da glândula pineal de rato apresentando suas três porções distintas: Pineal superficial, pedúnculo pineal e pineal profunda. Modificado de (SWANSON, 1998).

A glândula pineal é a responsável pela síntese e secreção do hormônio melatonina, que participa na organização temporal de ritmos biológicos atuando como representante para o meio interior do ciclo claro / escuro ambiental. A melatonina atua na regulação de vários processos fisiológicos, incluindo a regulação endócrina da reprodução (GOLDMAN, 2001), a regulação do sistema cardiovascular, em particular da pressão arterial (MCKINLEY, 1990), a regulação de ciclos de atividade-reposo e vigília-sono (ARMSTRONG, 1989) e do sistema imunológico (FRASCHINI et al., 1990). Ademais, a melatonina desempenha uma importante função fisiológica regulatória no metabolismo, influenciando inúmeros fatores ligados ao balanço energético (CIPOLLA-NETO et al., 2014).

Em mamíferos a produção de melatonina apresenta um ritmo de 24 horas (circadiano). Independentemente do padrão de atividade da espécie, os processos de produção e secreção de melatonina pineal limitam-se à fase de escuro do ciclo diário de iluminação ambiental, tendo a sua duração variável de acordo com a duração sazonal da noite (CIPOLLA-NETO, J.; AFECHE, 2012). Tal característica confere à glândula pineal o papel fisiológico de sinalizar para o meio interno, através da presença e ausência diária da melatonina na circulação e nos diversos líquidos corpóreos, se é noite ou dia no meio exterior e, a partir da duração do seu perfil secretório noturno, qual é a estação do ano (CIPOLLA-NETO et al., 1999).

A melatonina é uma indolamina (N-acetil-5-metoxitriptamina) de peso molecular 232,3 Da. A cadeia bioquímica de síntese de melatonina começa com o aminoácido triptofano, que, através da enzima triptofano hidroxilase, é convertido em 5-hidroxitriptofano (5-HTP). Este, sob a ação da descarboxilase de L-aminoácidos aromáticos, é transformado em serotonina (5-HT). A serotonina é convertida em N-acetilserotonina (NAS) pela ação da enzima arilquilamina-N-acetiltransferase (AANAT), e a NAS, oximetilada pela enzima hidroxindoloximetiltransferase (HIOMT), também chamada de acetilserotonina-oximetiltransferase (ASMT), dando origem à 5-metoxi-N-acetiltryptamina, conhecida como melatonina (CIPOLLA-NETO, J.; AFECHE, 2012) (Figura 2).

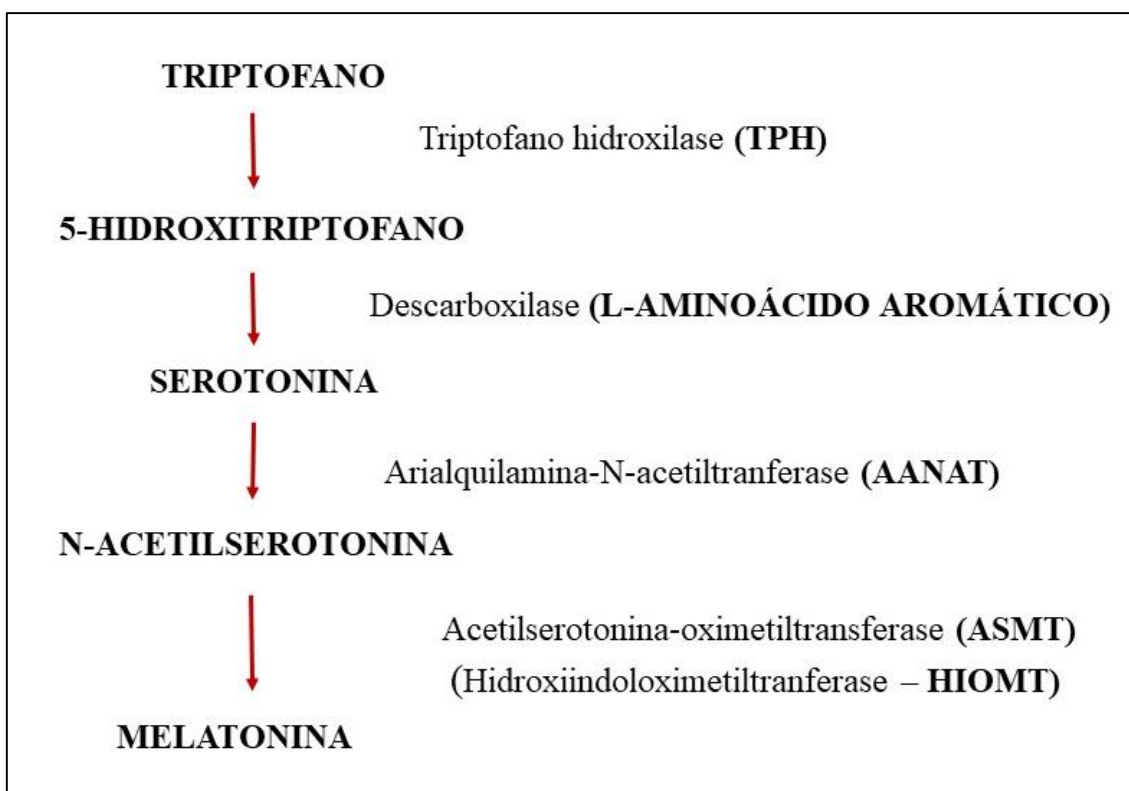


Figura 2 - Representação das enzimas envolvidos na síntese da melatonina pineal (adaptado de (CIPOLLA-NETO, J.; AFECHE, 2008).

A síntese de melatonina é controlada por uma via neural que se inicia no núcleo paraventricular hipotalâmico (NPV) que, a partir de projeções diretas e indiretas, se conecta com os neurônios pré-ganglionares simpáticos da coluna intermédio lateral da medula espinhal (IML) torácica alta. Esses neurônios, por sua vez, projetam-se sobre o gânglio cervical superior (GCS) e deste dá-se origem a inervação pós-ganglionar simpática que caminha pelos nervos conários, ramos dos carotídeos internos, que controla, na glândula pineal, a síntese de melatonina. Destas terminações simpáticas há a liberação de noradrenalina nos interstícios da glândula, estimulando a síntese de melatonina, através da interação com os adrenoreceptores β e α (KAPPERS, 1960) (Figura 3).

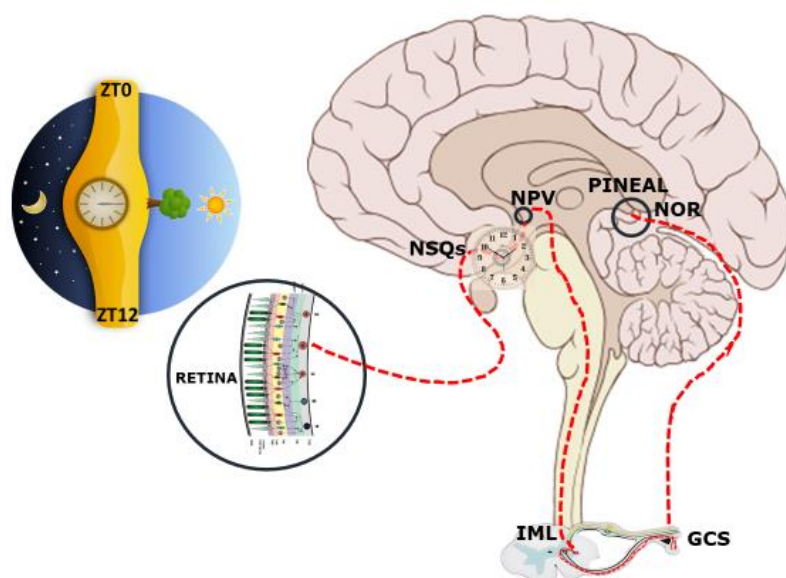


Figura 3 - A síntese de melatonina é controlada por um sistema neural com origem no núcleo paraventricular hipotalâmico que, por sua vez, é temporizado pelo sistema de temporização circadiano, representado pelas projeções dos NSQs. Estes são sincronizados pela variação da luminosidade diária do ciclo claro-escuro ambiental captada pela retina. Esse sistema garante que a síntese da melatonina se dê apenas na fase escura. NSQs: núcleos supraquiasmáticos; NPV: núcleo paraventricular hipotalâmico; IML: coluna intermédio lateral da medula espinhal; GCS: gânglio cervical superior; P: pineal; NOR: noradrenalina (Adaptado de CIPOLLA-NETO, J.; AFECHE, 2008).

Porém, sabe-se que a síntese se dá apenas durante a noite e isso se deve ao controle temporizador exercido pelos núcleos supraquiasmáticos (NSQs). Os NSQs estão sincronizados ao ciclo de iluminação ambiental através da via retino-hipotalâmica. Durante a noite a atividade neural dos NSQs que inervam o NPV é predominantemente glutamatérgica, ou seja, há estimulação do NPV e consequente ativação do circuito neural

que resulta na liberação de noradrenalina no interstício da glândula e conseqüentemente estímulo da produção de melatonina. Já durante o dia, a luz captada pela retina e conduzida aos NSQ, via retino-hipotalâmica, faz com que a atividade dos NSQs em sua projeção para o núcleo NPV seja predominantemente gabaérgica, inibindo a liberação de noradrenalina na glândula pineal.

Dessa forma, pode-se associar, não importando se a espécie é de atividade diurna ou noturna, o dia biológico a atividade neural gabaérgica nos NSQs com a não produção de melatonina e, a noite, na ausência ou redução dessa atividade gabaérgica juntamente com o aumento da atividade glutamatérgica, com a produção de melatonina (CIPOLLA NETO, J.; AFECHE, 1992; MOORE; SPEH; CARD, 1995).

A ativação noturna da via neural de projeção periférica para a glândula pineal induz a liberação de noradrenalina nas proximidades dos pinealócitos, os quais apresentam receptores α e β -adrenérgicos. Da interação com os receptores β (subtipo $\beta 1$) há indução do aumento do AMPc intracelular através da ativação de uma proteína G estimulatória (Gs) e da enzima adenilato ciclase (AC1). A ativação dos receptores α (subtipo $\alpha 1B$) ativa uma proteína Gq ligada à estimulação da fosfolipase C (PLC), a qual promove a hidrólise de fosfoinosítídeos de membrana, gerando IP3 e diacilglicerol. O IP3, atuando em seus receptores no retículo endoplasmático, induz a liberação do cálcio desses estoques, tendo como conseqüência um aumento do cálcio intracitoplasmático. O aumento do cálcio induzido por noradrenalina caracteriza-se por um pico seguido de um platô (SCHAAD et al., 1995). O cálcio e o diacilglicerol ativam a proteína quinase C (PKC), a qual potencializa o aumento do AMPc já induzido pela estimulação β -adrenérgica. Este efeito pode ocorrer pela fosforilação da adenilato ciclase ou da proteína Gs. (BORJIGIN; WANG; SNYDER, 1995; CHIK; HO; KLEIN, 1988; KLEIN; SUGDEN; WELLER, 1983; SUGDEN; KLEIN, 1988; VANECEK et al., 1985).

Em rato o AMPc ativa a proteína quinase A (PKA) do tipo 2 (MARONDE et al., 1999), a qual fosforila um fator de transcrição, a proteína CREB (“cAMP response element binding”). Esta, por sua vez, se liga ao sítio CRE (“cAMP response element”) na região promotora do gene da AANAT, induzindo a transcrição seguida pela tradução citoplasmática dessa enzima (CHIK et al., 2007; KLEIN, 2007).

Quando a AANAT está fosforilada (fosforilada pela PKA) ocorre a sua ligação com a proteína 14-3-3 zeta, ligação essa que se dá através do sítio da enzima fosforilado pela PKA, formando então, um complexo AANAT-14-3-3 (GANGULY et al., 2001). A estimulação adrenérgica induz também a síntese de fatores de transcrição negativos na

glândula pineal, sendo um dos mais importantes o ICER (“inducible cAMP early repressor”), que tem um papel inibitório mais tardio da transcrição do gene da AANAT. O RNA mensageiro do ICER exibe um ritmo circadiano na pineal do rato, com um pico na segunda metade da noite, precedendo o declínio da síntese de melatonina. Além do ICER, o AMPc estimula a síntese de outros fatores de transcrição negativos, como o Fra-2 (“Fos-related antigen-2”) e JunB, que também poderiam estar promovendo a queda circadiana da atividade da AANAT (BALER; KLEIN, 1995; SPESSERT et al., 2000).

O passo final da produção de melatonina ocorre quando a enzima acetilserotonina-oximetiltransferase (ASMT) transforma a N-acetilserotonina (NAS) em melatonina (SIMONNEAUX; RIBELAYGA, 2003).

Existem muitos outros locais de síntese da melatonina, tais como retina e sistema gastrointestinal, entretanto a melatonina sintetizada nestas regiões tem maior importância na modulação de fenômenos locais (ARENDDT, 1995) e, em condições fisiológica não é lançada na circulação sistêmica.

Após a sua síntese, a melatonina pineal é imediatamente liberada na corrente sanguínea, não sendo armazenada na glândula. A melatonina plasmática circula ligada à albumina. Sua vida média circulante é de aproximadamente 20 minutos em ratos e 44 minutos em humanos (PANG; DUBOCOVICH; BROWN, 1993). Em uma única passagem pelo fígado 90% da melatonina é metabolizada, sendo convertida em 6-hidroxi melatonina, que sofre outra transformação passando a ser 6-sulfatoxi melatonina que é excretada na urina. A melatonina também pode ser degradada no sistema nervoso central em quinuraminas sob a ação da 2,3 indolamina dioxigenase (REITER, 1991).

A estrutura da molécula melatonina apresenta grupamentos metóxi no carbono 5 e acil ligado ao nitrogênio do grupo amina, atribuindo-lhe características anfifílicas, ou seja, fazendo com que ela possa difundir-se tanto em meios aquosos quanto lipídicos (Figura 4). Devido a essa característica de solubilidade, a melatonina pode ser encontrada em todos os compartimentos do organismo. Além disso, os seus carbonos 2 e 3 do anel pirrólico possuem alta capacidade de doar elétrons, permitindo que essa molécula apresente uma alta capacidade antioxidante sendo, inclusive, um dos agentes antioxidantes naturais mais importantes (TAN et al., 2002).

N- ACETIL- 5-METOXITRIPTAMINA

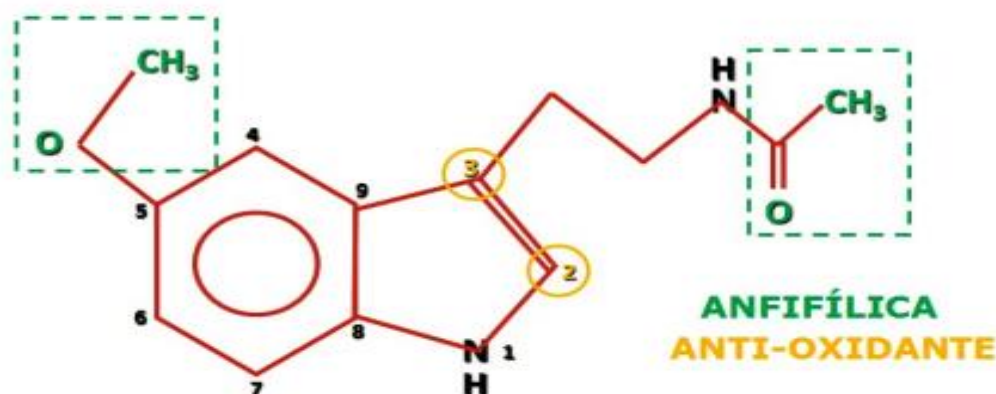


Figura 4 - Representação das características químicas da molécula de melatonina (adaptado de (CIPOLLA-NETO, J.; AFECHÉ, 2008).

Os efeitos da melatonina ocorrem em diversos tecidos através da sua interação com receptores de membrana de alta afinidade, tais como: MT1 e MT2, que possuem sete alças transmembrânicas e atuam em associação à proteína G (REPPERT; WEAVER; GODSON, 1996). A melatonina também pode interagir com um fator transcricional RZR/ROR (GARCIA-MAURIÑO et al., 1997; KIM; WOO; LIM, 2008; STEINHILBER et al., 1995). A expressão dos receptores de melatonina e RZR/ROR são difundidos dentro do organismo, sendo localizado nos tecidos periféricos e no sistema nervoso central, incluindo os núcleos supraquiasmáticos (GILLETTE; MCARTHUR, 1996; SMIRNOV, 2001). A melatonina pode ter ações diretas ou não mediadas por receptores, podendo agir diretamente em espécies oxidativas de oxigênio e nitrogênio caracterizando sua ação antioxidante (CIPOLLA-NETO et al., 2014).

Além disso, ela regula ampla variedade de processos biológicos, incluindo ritmos circadianos, neuroendócrinas, cardiovasculares e funções imunes (LEIBOWITZ et al., 2008). Tem efeitos anti-hipertensivos (LEIBOWITZ et al., 2008), hipolipidêmicos e anti-obesogênicos.

TCHIO et al., 2020, demonstrou que a remoção da sinalização do receptor de melatonina do tipo 1 induz dislipidemias e mudanças hormonais em camundongos submetidos a perturbação circadiana ambiental.

Além do mais, uma série de estudos vem demonstrando os efeitos importantes da suplementação com melatonina na resistência à insulina, diabetes tipo 2, metabolismo da glicose e sinalização insulínica (ANOTHAISINTAWEE et al., 2017; COSTES et al.,

2015; HARDELAND, 2017; MCMULLAN et al., 2013; RUBIO-SASTRE et al., 2014; VAN GEIJLSWIJK; KORZILIUS; SMITS, 2010; AMARAL et al., 2019).

SINALIZAÇÃO INSULÍNICA NO CONTROLE DA GLICEMIA

A insulina é um peptídeo de 5,8 kDa. É um hormônio anabólico produzido e secretado pelas células β pancreáticas, sendo que, normalmente é secretado durante a alimentação. Um forte sinal oriundo da alimentação é o aumento dos níveis circulantes de aminoácidos e glicose plasmática, que por sua vez desencadeia a secreção de insulina pelas células em questão (JENSEN et al., 2017). Após sua secreção, ela trafega livremente no plasma possuindo uma meia-vida de 3-5 min e atua ligando-se ao receptor de insulina (IR) para desempenhar vários efeitos intracelulares.

No sistema hepático, a insulina promove o aumento da glicogênese e a inibição da glicogenólise e da gliconeogênese, e aumento da lipogênese. Já no músculo esquelético, aumenta a glicogênese e a captação de glicose através das proteínas transportadoras de glicose (GLUT 4) e no tecido adiposo branco promove o aumento da captação de glicose (via GLUT4) e da lipogênese e diminuição da lipólise (TITCHENELL; LAZAR; BIRNBAUM, 2017).

O receptor de insulina pertence a uma subfamília de receptores de tirosina quinase (RTKs), que também inclui o receptor de fator de crescimento similar a insulina 1 (IGF1) e um receptor órfão, conhecido como receptor de insulina relacionado (IRR). O receptor de insulina é composto por duas subunidade: α e β (BECKER; ROTH, 1990). A subunidade α é extracelular e se liga à insulina. Já a subunidade β é formada por uma proteína transmembrana e tem atividade tirosina quinase que autofosforila o receptor (AVRUCH, 1998; ULLRICH; SCHLESSINGER, 1990).

A autofosforilação do receptor de insulina aumenta sua atividade tirosina quinase, que eleva a fosforilação dos substratos de receptor de insulina 1 e 2 (IRS), que ao estarem fosforilados se associam e ativam a enzima fosfoinositídeo-3 quinase (Pi3K), catalisando a fosforilação dos fosfoinositídeos de membrana formando fosfatidilinositol (3,4) bifosfato (PIP2) e fosfatidilinositol (3,4,5) - trifosfato (PIP3).

O PIP3, por sua vez, se liga aos domínios PH (pleckstrin homology) da Akt (também conhecida como proteína quinase B) alterando sua atividade e localização (CALLEJA et al., 2007; MILBURN et al., 2003; THOMAS et al., 2002).

A geração do PIP3 promove o recrutamento da quinase 1 dependente de fosfoinositídeo (PDK1), levando a subsequente fosforilação de Akt por PDK1 em

Treonina 308 (Thr308) e o alvo mamífero de rapamicina (mTORC 2) fosforila a Akt em Serina 473 (Ser473) (TANIGUCHI; EMANUELLI; KAHN, 2006) (Figura 5).

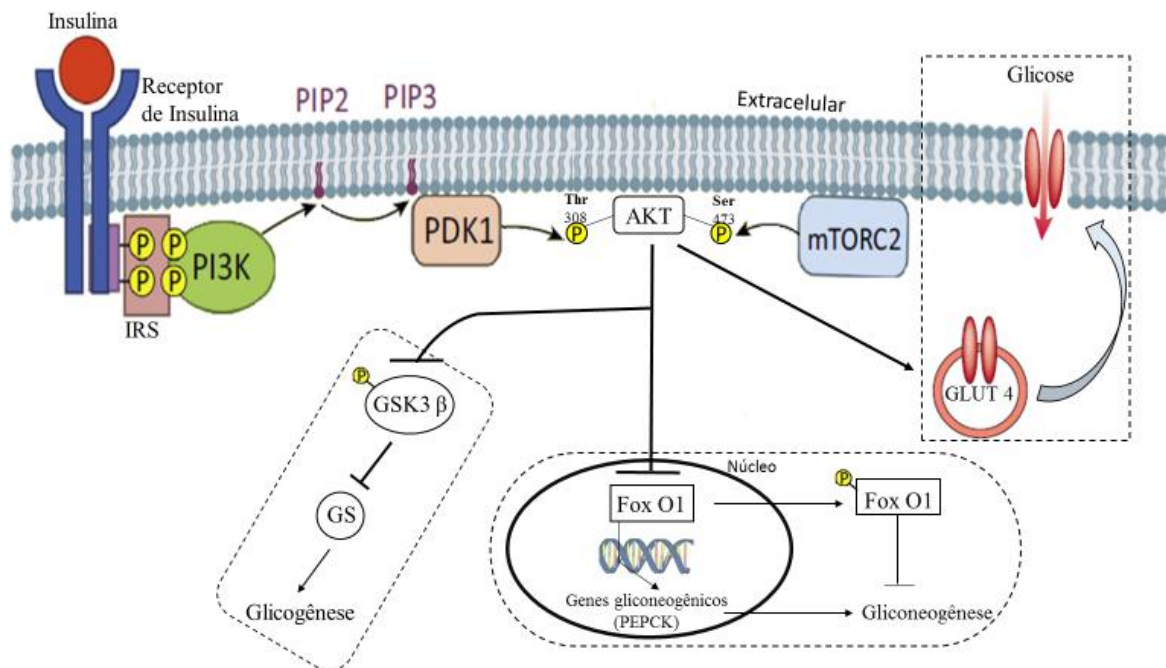


Figura 5 - A ligação da insulina ao receptor de insulina resulta na sua autofosforilação, e os substrato de receptores de insulina (IRS) são recrutados e fosforilados. As proteínas IRS, em seguida, recrutam e ativam fosfoinositídeo-3 quinase (Pi3K) e esse, por sua vez, catalisa a fosforilação do fosfatidilinositol (4, 5) - bifosfato (PIP2) e fosfatidilinositol (3,4,5) - trifosfato (PIP3). A quinase 1 dependente de fosfoinositídeo (PDK1) é então ativada por PIP3, que fosforila a Akt em Thr308. Além disso, a Akt também é fosforilada pela mTORC2 em Ser473. Após a ativação nos dois resíduos (Thr e Ser), a Akt induz a síntese de glicogênio hepático e muscular por meio da fosforilação do glicogênio sintase quinase 3 β (GSK3), sendo que, essa quinase depois de sua fosforilação deixa de inibir a enzima glicogênio sintase (GS), favorecendo assim a formação de glicogênio. No fígado, a Akt inibe a expressão do gene gliconeogênico pela fosforilação e inibição do FoxO1, um fator de transcrição envolvido na expressão e atividade da fosfoenolpiruvato-carboxiquinase (PEPCK). Ademais, no músculo esquelético e no tecido adiposo branco, a Akt estimula a captação de glicose por meio da translocação do GLUT4 até a membrana plasmática.

A Akt tem várias subunidades (Akt 1, 2 e 3) e quando fosforilada gera vários efeitos biológicos, sendo eles: controle do crescimento celular, interrupção do processo apoptótico, expressão gênica, diferenciação celular, síntese de glicogênio, captação de glicose, síntese de proteínas, regulação da gliconeogênese, lipogênese e metabolismo da glicose.

A sinalização insulínica via Pi3K/Akt desempenha papel diferente de tecido para tecido. No fígado, por exemplo, essa via participa de uma forma fundamental na coordenação da homeostase metabólica sistêmica e na adaptação à disponibilidade e privação de nutrientes. Durante o estado de jejum, a combinação do alto nível de glucagon e níveis baixos de insulina aumenta a produção de glicose hepática (HGP) para atender às demandas metabólicas dos tecidos periféricos. Esse aumento na HGP inicialmente se

origina na degradação do glicogênio armazenado, denominado glicogenólise. A medida que as reservas de glicogênio são reduzidas, o fluxo glicolítico diminui, com isso ocorre o aumento da expressão e atividade dos genes envolvidos na via gliconeogênica, culminando na produção de glicose a partir de precursores de 3 carbonos (RAMNANAN et al., 2011). Já em seu estado alimentado, a medida que os níveis de glucagon diminuem e as concentrações de insulina aumentam, ocorre o aumento na captação de glicose no fígado, síntese de glicogênio, inibição da gliconeogênese e indução da síntese de ácidos graxos para armazenamento e posterior utilização (LIN; ACCILI, 2011).

De uma maneira mais detalhada, a sinalização insulínica hepática diminui a expressão de membros gliconeogênicos da família FOXO (“forkhead box protein O”) de fatores de transcrição (FOXO1, FOXO3 e FOXO4) (LIN; ACCILI, 2011). As proteínas FOXO, principalmente a FOXO1, são fosforiladas pela AKT após a estimulação com insulina, o que induz a sua retirada do núcleo e a consequente inativação. Essa proteína controla a expressão gênica da enzima fosfoenolpiruvato-carboxiquinase (PEPCK) que é responsável pela conversão de oxoalacetato em fosfoenolpiruvato e também controla a expressão da enzima Glicose 6-fosfatase (G6F), que, por sua vez, converte glicose-6-fosfato em glicose, sendo a rota final da via gliconeogênica (NAKAE et al., 2001).

Além disso, outro alvo da AKT fosforilada é o Glicogênio Sintase Quinase 3 B (GSK3B) que ao ser fosforilado deixa de inibir o glicogênio sintase, culminando assim na formação de glicogênio hepático (FRAME; COHEN, 2001).

Além desses efeitos no sistema hepático, a sinalização insulínica no tecido adiposo branco regula o metabolismo lipídico, glicêmico e proteico (FRAYN, 2002). No metabolismo glicêmico, a AKT tem um grande controle no aumento da taxa de captação de glicose através da membrana celular, pois ela fosforila a proteína TBC1D4 (“domain family member 4”), também conhecida como AS160 (substrato de Akt 160 kDa), aumentando a translocação do GLUT4 para a membrana plasmática e, conseqüentemente, aumenta a captação celular de glicose (BOGAN, 2012; NEWSHOLME; DIMITRIADIS, 2001).

De uma maneira similar ao tecido adiposo branco, a insulina via Pi3k/Akt controla a captação de glicose via GLUT 4 no músculo esquelético. E, além disso, a sinalização insulínica aumenta a síntese de glicogênio muscular através da fosforilação e inativação do GSK3-B e, conseqüentemente, síntese de glicogênio através da enzima glicogênio sintase (KROOK et al., 2000; SAMUEL; SHULMAN, 2012; SHULMAN et al., 1990).

A enzima GSK3 tem duas isoformas principais: alfa (GSK-3A) e beta (GSK-3B). As isoformas de GSK-3 são codificadas por genes diferentes, porém são reguladas de forma semelhante (Barry et al., 2003).

De uma maneira geral, a sinalização insulínica no controle do metabolismo da glicose sofre uma forte variação circadiana por intermédio das fases diárias de alimentação e/ou jejum, e essas fases são sincronizadas pelo ciclo de iluminação ambiental e pelo período de atividade de cada espécie (atividade diurna ou noturna) (FORRESTEL et al., 2017; PANDA, 2016).

A sinalização insulínica pode ser afetada em certas circunstâncias. Esses casos são conhecidos como resistência à insulina, sendo o resultado de uma profunda desregulação desses processos (gliconeogênese, glicogênese, captação de glicose via GLUT 4, menor responsividade do IR), produzindo elevações nos níveis glicêmicos em jejum e no período pós-prandial. Tal desregulação é considerada como um dos mecanismos básicos para um possível desenvolvimento do diabetes tipo 2 (SAMUEL; SHULMAN, 2016).

DIABETES MELLITUS

O diabetes mellitus (DM) é um distúrbio metabólico complexo e primário dos carboidratos, que envolve, de forma secundária, os lipídeos e proteínas. É caracterizado por hiperglicemia resultante da perda progressiva da secreção ou da ação da insulina (ZIMMET; ALBERTI; SHAW, 2001).

Dos três principais tipos de diabetes mellitus, o diabetes tipo 1 e o diabetes gestacional correspondem a cerca de 10% dos casos (IDF, 2013; MAAHS et al., 2010), sendo que 90% dos casos correspondem ao diabetes tipo 2 (IDF, 2019). Esses tipos distinguem-se pela apresentação clínica, origem genética, patogênese, lesões das ilhotas pancreáticas e resposta à insulina (CANIVELL; GOMIS, 2014).

Além desses 3 principais tipos, existem outros tipos de diabetes, como o MODY (Maturity-Onset Diabetes of the Young), que é um subtipo de diabetes mellitus, caracterizado por manifestação precoce (normalmente abaixo dos 25 anos de idade) e com transmissão autossômica dominante. Além disso, várias síndromes estão associadas ao aparecimento do diabetes mellitus (GARDNER; TAI, 2012).

Pesquisas indicam que o número estimado de adultos vivendo com diabetes é de aproximadamente 463 milhões. Este número deverá aumentar para 700 milhões de

peças até 2045, o que representa um aumento de 51% de novos casos (IDF, 2019) (Figura 6).

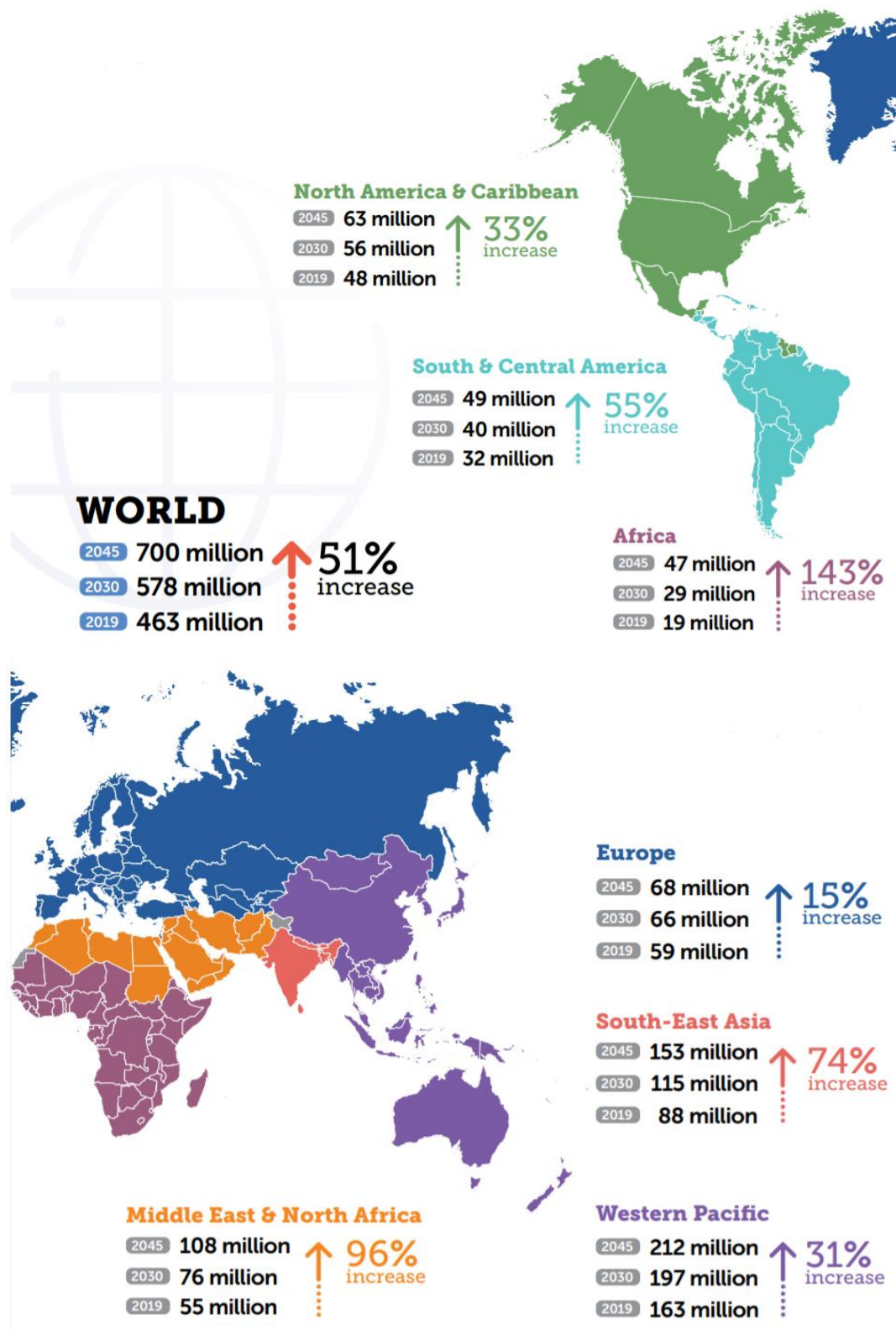


Figura 6 – Representação da estimativa de pessoas vivendo com diabetes em 2019, 2030 e 2045 por continente (pessoas entre 20 – 79 anos) (IDF, 2019).

Cabe esclarecer que a glicemia de jejum em uma situação normoglicêmica varia entre 70 a 99mg/dL, sendo mantida em uma faixa estreita de variabilidade. Em várias situações esse parâmetro pode se encontrar acima dos valores preconizados como ideais, entretanto, ainda não o suficiente para se realizar o diagnóstico de diabetes. Nessas situações onde normalmente o indivíduo apresenta intolerância à glicose mediante realização de teste de tolerância à glicose (GTT) e glicemia de jejum aumentada, surge um quadro conhecido como pré-diabetes. Pessoas com pré-diabetes [(Tolerância à glicose diminuída (IGT – Impaired glucose tolerance) ou Glicemia de jejum alterada (IFG – Impaired fasting glucose)] tem um alto risco de desenvolver diabetes tipo 2, e estima-se que após 5 anos de diagnóstico de IGT ou IFG, de 26% a 50% das pessoas com essa condição clínica desenvolvam diabetes tipo 2 (DEFRONZO et al., 2015; IDF, 2019; RICHTER et al., 2018).

O OGTT (GTT oral) e a glicemia de jejum são dois exames bastante utilizados como ferramenta para detecção do diabetes mellitus, segundo os critérios da WHO e IDF. Indivíduos que apresentem glicemia de jejum acima de 126mg/dL e/ou acima de 200mg/dL duas horas após ingerir 75g de glicose, podem ser caracterizados como portadores de diabetes tipo 2. Ressalta-se ainda que os valores de referência (após 8 horas de jejum) são abaixo de 99mg/dL para o metabolismo da glicose ideal, e entre 100mg/dL – 125mg/dL em situações de pré diabetes e a partir de 126mg/dL no caso de diabetes tipo 2 (WHO, 1999; DEFRONZO et al., 2015; IDF, 2019).

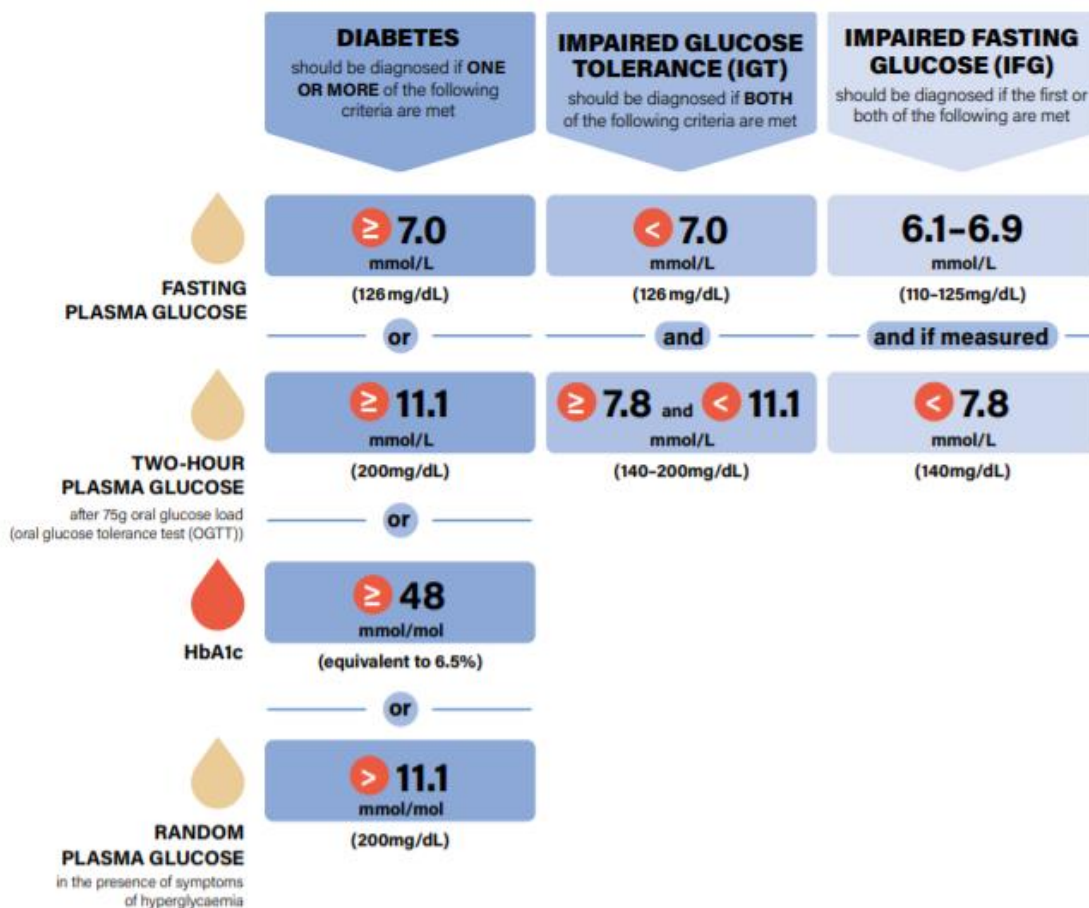


Figura 7 - Critérios de diagnóstico para diabetes. O jejum é definido como ausência de ingestão calórica por pelo menos 8 horas. O teste HbA1c deve ser realizado em laboratório, utilizando um método certificado pela NGSP (national glycohemoglobin standardization program) e padronizado para o Controle e Complicações do Diabetes Ensaio experimental. O teste de glicose pós-prandial de 2 horas deve ser realizado usando uma carga de glicose contendo o equivalente a 75g de glicose anidra dissolvida em água. (IDF, 2019) Nota: A American Diabetes Association (ADA), recomenda diagnosticar 'pré-diabetes' com valores de HbA1c entre 39 e 47 mmol / mol (5,7-6,4%) e glicemia de jejum diminuída quando a glicemia de jejum está entre 5,6 e 6,9 mmol / L (100–125 mg / dL). (ADA, 2018).

No diabetes tipo 2 ocorre a produção de insulina, porém o organismo está em uma condição de resistência à ação desse hormônio. Ao longo do tempo nessa situação, os níveis de insulina podem se tornar insuficientes. Tanto a resistência à insulina quanto a sua menor produção a longo prazo resultam em aumento de glicemia com todas as comorbidades associadas a este distúrbio fisiológico (IDF, 2019). A desregulação da sinalização de insulina geralmente resulta em resistência à insulina, o que é a característica mais clássica na patogênese de DM2 e distúrbios metabólicos. Por sua vez, as duas causas mais associadas ao do DM2 são a predisposição genética e a obesidade (DEMIDOVA; AMETOV; TITOVA, 2006; PRASAD; GROOP, 2015). De acordo com a Organização Mundial da Saúde, a obesidade é observada em 30% da população mundial (WHO, 2017). A obesidade é caracterizada por adiposidade excessiva e inflamação crônica. Muitas vezes a obesidade gera uma disfunção metabólica por desencadear as vias

inflamatórias que levam à ativação da quinase I κ B (IKK) e quinases relacionadas, que afetam a sinalização insulina por fosforilar e inibir a função do IRS, e geralmente precede o quadro de DM2 (BOURA-HALFON; ZICK, 2009; ZICK, 2004).

Diferentemente do que é observado na população mundial, a China e a Índia são áreas particularmente afetadas pelo diabetes tipo 2 sem uma relação direta com o sobrepeso e a obesidade (YOON et al., 2006). Os asiáticos tendem a ter maior acúmulo de gordura abdominal e menor massa muscular associado ao aumento da resistência à insulina, o que pode explicar sua maior predisposição ao DM2 não oriundo da obesidade clássica (AEKPLAKORN et al., 2006; LEAR et al., 2007; RAMACHANDRAN, 2005; YAJNIK et al., 2002).

MODELO EXPERIMENTAL GOTO KAKIZAKI

O modelo Goto Kakizaki (GK) são animais geneticamente selecionados que a partir da 8ª semana de vida apresentam hiperglicemia de jejum acima de 120 mg/dl. Em 1976, foi realizado um trabalho que consistia em selecionar ratos Wistar que apresentavam alterações na glicemia no teste de tolerância à glicose. Tanto os machos quanto as fêmeas que exibiam essas alterações na homeostasia de glicose foram selecionados para o acasalamento.

Com isso, a cada prole os resultados demonstravam uma maior taxa de animais com alta concentração de glicose plasmática. A seleção foi realizada até a obtenção da prole na qual 100% dos animais apresentavam tolerância à glicose e hiperglicemia de jejum moderada. Esta seleção originou a primeira geração de ratos diabéticos tipo 2 não obesos com características genéticas provenientes dos animais Wistar (GOTO; KAKIZAKI; MASAKI, 1976).

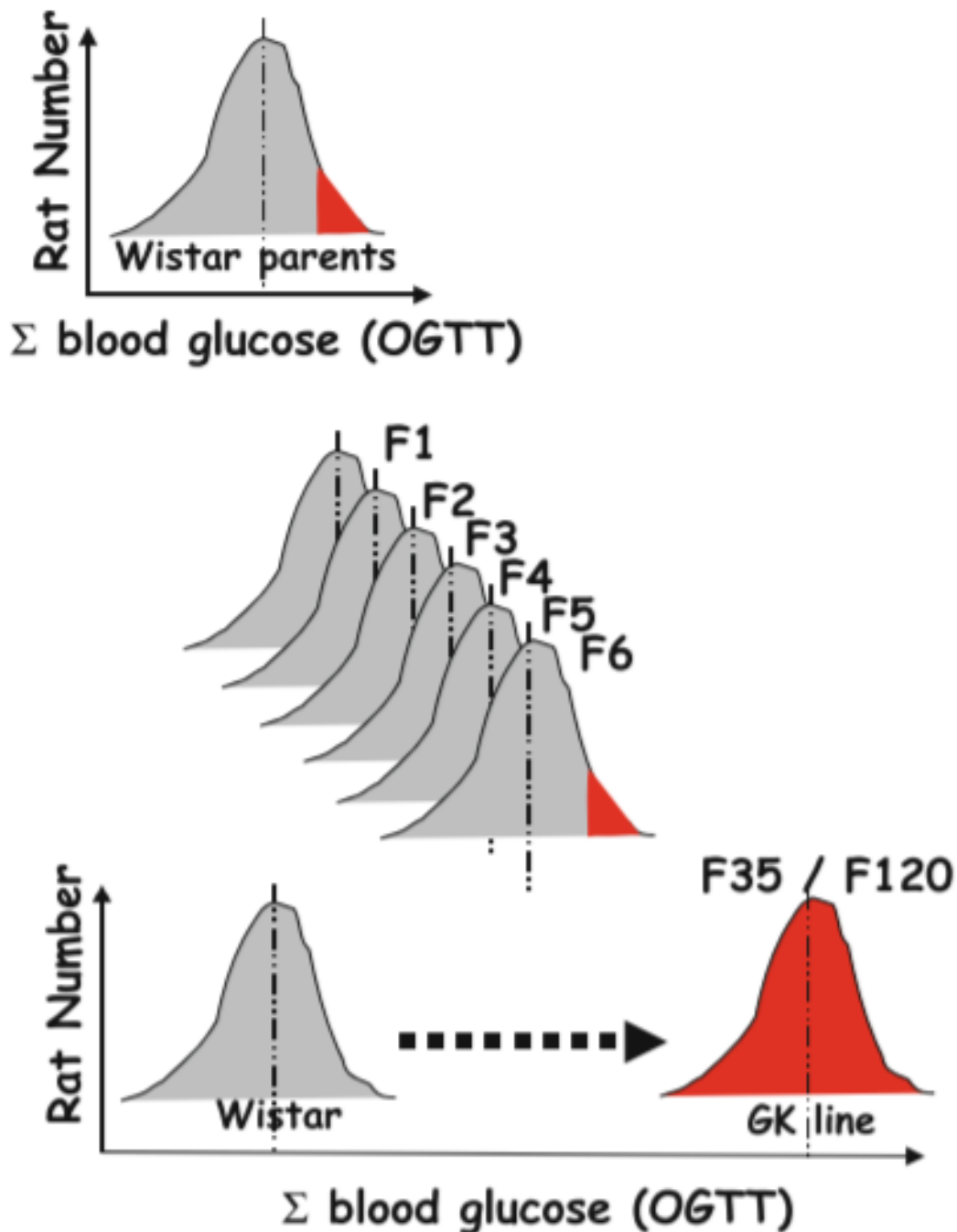


Figura 8 - Do rato não diabético Wistar (W) ao rato GK espontaneamente diabético (Goto-Kakizaki). A linhagem de ratos GK (oriundo da linhagem Wistar) foi produzida por Goto et al. na Universidade Tohoku, Sendai, Japão, pela criação seletiva de ratos Wistar normais ao longo de muitas gerações usando valor de tolerância à glicose (e não apenas o valor basal de glicose) como um fenótipo discriminante (GOTO Y, KAKIZAKI; M, 1975). Apenas ratos Wistar selecionados no limite superior da distribuição normal para tolerância à glicose foram utilizados. Foi relatado que o estado diabético (hiperglicemia basal) se tornou estável após as 30 gerações de cruzamentos seletivos na colônia japonesa original. Esta figura é a ilustração da distribuição da soma dos valores de glicemia durante testes padronizados de tolerância à glicose oral (OGTT) realizados em ratos Wistar originais, nos ratos das gerações F1 a F35 na colônia japonesa original e em ratos das gerações F35 a F120 criados sob as mesmas condições em Paris de 1989 até agora (sublinhado GK/line). Na linhagem de ratos GK/line, todos os ratos não apresentam excesso de peso, não são cétricos e apresentam hiperglicemia em jejum moderada com forte intolerância à glicose pós-prandial. Não foi registrada atenuação, nem agravamento do fenótipo diabético (mais de 20 anos e 80 gerações) na linha GK/line (GOTO; KAKIZAKI; MASAKI, 1976; PORTHA et al., 2012).

Posteriormente, alguns trabalhos realizaram um mapeamento genético do rato GK e evidenciaram diferenças em diversos cromossomos, em diferentes loci quando comparados com o Wistar. Ademais, as características exibidas pelos ratos GK não estão associadas a uma mutação genética específica, mas sim a um conjunto de modificações em diferentes cromossomos que levaram ao desbalanço na homeostasia de glicose (GALLI et al., 1996; GAUGUIER et al., 1996).

Os animais GK apesar de possuírem peso corporal cerca de 30% menor do que dos animais Wistar com a mesma idade, apresentam triglicerídeos e colesterol aumentados, além de serem resistentes à insulina (AKASH et al., 2013). Ademais, esses animais têm a síntese de melatonina pineal significativamente menor (cerca de 50%), devido a hiperglicemia periférica (FRESE et al., 2009). Como já demonstrado por Amaral et al., (2014), a hiperglicemia por si é capaz de diminuir significativamente a síntese de melatonina pineal.

Já é bem estabelecido na literatura que animais GK apresentam complicações na síntese e secreção de insulina e menor massa de células beta pancreáticas em períodos pré-natal (MOVASSAT et al., 2007; PORTHA et al., 2009b). A inflamação crônica das ilhotas pancreáticas do animal GK é considerada como um grande contribuidor no processo fisiopatológico do DM2 (EHSES et al., 2007; GIROIX et al., 2011). Entretanto, os mecanismos pelos os quais esses animais desenvolvem resistência à insulina continuam subjacentes (EHSES et al., 2007; PORTHA et al., 2009; LACRAZ et al., 2010).

Além das complicações pancreáticas, os animais GK apresentam outros fatores que contribuem para o quadro diabético. Quanto ao metabolismo hepático, a produção de glicose hepática basal (pós-absorção) é aumentada em ratos GK com 2 meses de idade (BISBIS et al., 1993; PICAREL-BLANCHOT et al., 1996; BERTHELIER et al., 1997; MOVASSAT et al., 2008). Os estudos de *clamp* revelaram uma diminuição dos efeitos da insulina em suprimir a produção de glicose hepática, demonstrando que o fígado de ratos GK adultos são resistentes à ação da insulina, favorecendo assim a gliconeogênese (BERTHELIER et al., 1997; BISBIS et al., 1993b; MOVASSAT et al., 2008).

Ademais, estudos *in vitro* do músculo sóleo de ratos diabéticos GK mostraram que a atividade máxima da AKT quinase estimulada por insulina e o transporte de glicose estão reduzidos em comparação com ratos Wistar (controle). É importante ressaltar que as alterações nessa via de transporte foram completamente restaurados pelo tratamento de florizina (inibidor não seletivo de SGLT), sugerindo que a hiperglicemia por si pode

contribuir diretamente para o desenvolvimento da resistência à insulina muscular (nesse modelo), por meio de alterações na ação da insulina, ativação da AKT quinase e no transporte de glicose (KROOK et al., 1997; STEILER et al., 2003).

Além disso, a resistência à insulina ocorreu de maneira específica ao tipo de fibra muscular esquelética. A fosforilação da tirosina da atividade da PI3-quinase associada a IRS-1 e IRS1 foi severamente reduzida no músculo oxidativo (sóleo), sem comprometimento do músculo glicolítico (EDL) (SONG et al., 1999). Defeitos na microvasculatura muscular também foram documentados em ratos GK, o que pode ser importante tanto para a captação da glicose pelo músculo quanto para seu metabolismo e função (COPP et al., 2010; PADILLA et al., 2006, 2007b).

DIABETES MELLITUS E MELATONINA

A melatonina, devido aos seus efeitos cronobióticos, tem um papel importantíssimo na regulação do metabolismo energético. Ela distribui adequadamente várias funções metabólicas, alocando a gliconeogênese hepática a períodos de repouso/jejum e, a secreção e sensibilidade à insulina a períodos de atividade/alimentação, independentemente da espécie em questão. Vários trabalhos com roedores demonstraram que ela é fundamental para adaptações metabolicamente estressantes como: exercício e jejum, assim como uma regulação normal do fluxo energético (BORGES-SILVA et al., 2005; CIPOLLA-NETO et al., 2014).

A literatura relata que o diabetes farmacologicamente induzido por aloxana ou estreptozotocina (STZ) diminui significativamente a síntese de melatonina pineal e plasmática em ratos (PANG; TANG; TANG, 1985). Em animais diabéticos por STZ, a queda significativa na síntese de melatonina pineal é causada pela hiperglicemia, pois ocorre a diminuição da expressão do receptor beta adrenérgico, do AMPc, do conteúdo da proteína e da atividade da AANAT na pineal ((AMARAL et al., 2014). Além disso, como dito anteriormente, os animais Goto Kakizaki apresentam uma diminuição significativa na síntese de melatonina pineal (FRESE et al., 2009).

Vários mecanismos que contribuem para a progressão do diabetes tipo 2 têm sido estudado, incluindo estresse oxidativo, estresse de retículo endoplasmático, disfunção das células β pancreáticas, resistência insulínica e glicolitotoxicidade (AKASH et al., 2012; AKASH; REHMAN; CHEN, 2013; DONATH; SHOELSON, 2011). Todos esses fatores

são conhecidos por desencadear uma resposta inflamatória envolvendo Toll Like Receptor (TLR), Fator Nuclear Kappa B (NF- κ B), Fator de Necrose Tumoral α (TNF- α), Interleucina 1 β (IL-1 β) (EHSES et al., 2009).

Alguns resultados têm demonstrado que o estresse oxidativo é um dos fatores de risco mais importante para a progressão do diabetes tipo 2 (LACRAZ et al., 2009, 2010) e a hiperglicemia é um dos principais fatores para a geração do estresse oxidativo (AKASH et al., 2011; IHARA et al., 1999).

O estresse oxidativo pode ser aumentado devido ao baixo nível de agentes antioxidantes (ROBERTSON; HARMON, 2006) e esse baixo nível pode potencializar diversos mecanismos, tais como: promover a estimulação de mediadores (citocinas e quimiocinas), resistência à insulina, disfunção das células endoteliais, incluindo disfunção das células β pancreáticas e apoptose, agravando o quadro de diabetes tipo 2.

Além disso, em animais pinealectomizados (PINX), a ausência de melatonina aumenta a resistência à insulina hepática e, conseqüentemente, aumenta a gliconeogênese. Porém, a suplementação com melatonina restaura esse desarranjo metabólico (NOGUEIRA et al., 2011).

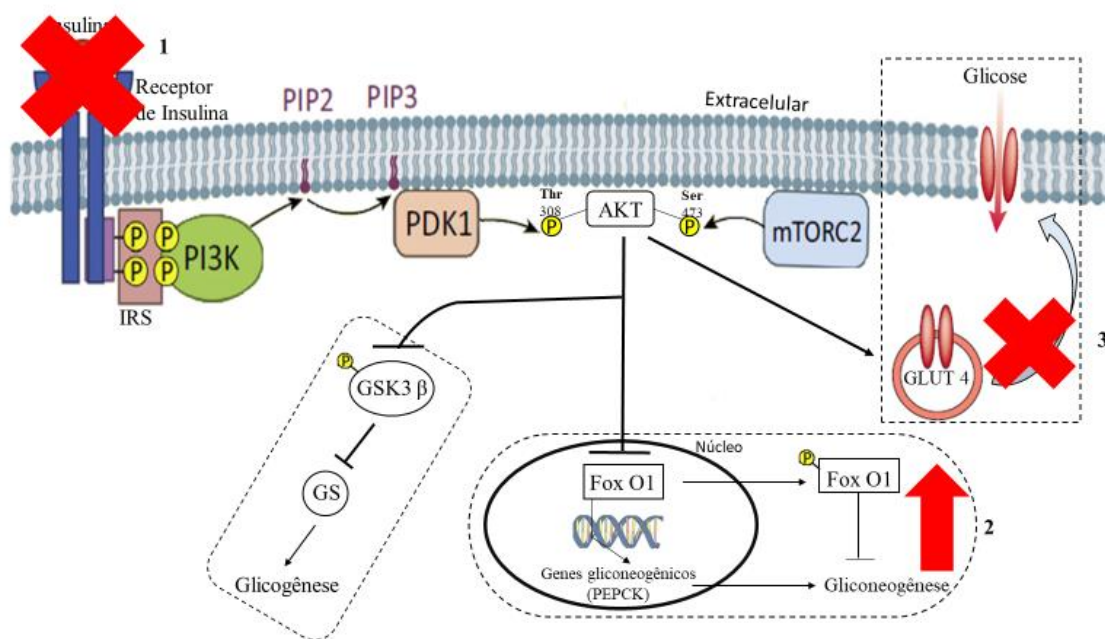


Figura 9 – 1-Resistência à ligação da insulina ao receptor de insulina resulta e conseqüente diminuição da ativação da via. 2- Diminuição da ativação da via insulínica no sistema hepático aumenta a gliconeogênese. 3 -No músculo esquelético e no tecido adiposo branco, a não fosforilação da AKT diminui a captação de glicose por meio da translocação do GLUT4 até a membrana plasmática. Fonte: próprio autor.

Ainda em animais PINX, um outro trabalho demonstra que a ausência de melatonina diminui significativamente o conteúdo de GLUT 4, mas os animais que

receberam a reposição com melatonina tiveram seu pool de GLUT 4 restaurado (ZANQUETTA et al., 2003).

Em um outro trabalho foi administrada melatonina por injeção intracerebroventricular e, os autores demonstraram que essa suplementação central é capaz de aumentar a sensibilidade à insulina no hipotálamo em animais Wistar (ANHÊ et al., 2004).

Adicionalmente, a suplementação com melatonina em animais diabéticos tipo 1 aumenta os níveis de fosforilação do substrato do receptor de insulina (IRS-1 e 2) e da atividade da Pi3k, o que potencializa a captação de glicose pelos tecidos periféricos, e, conseqüentemente, reduz a atividade lipolítica e proteolítica encontrada em animais com resistência à insulina e/ou quadro de diabetes já instalado (HA et al., 2006).

Em outro trabalho com animais diabéticos induzidos por estreptozotocina foi demonstrado que a suplementação com melatonina aumenta o peso corporal e a ingesta alimentar, provavelmente por melhorar a sinalização insulínica (MONTANO et al., 2010).

Em alguns grandes estudos de associação genômica, os polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNPs) no receptor de melatonina tipo Mtnr1B (MT2) foram associados com maiores níveis de glicose em jejum, maiores níveis de hemoglobina glicada (HbA1c) e aumento da incidência de diabetes gestacional e diabetes tipo 2 (BOUATIA-NAJI et al., 2009; PROKOPENKO et al., 2009).

Entre esses SNPs, aqueles que causam perda de função do receptor de melatonina foram associados à maior incidência de diabetes tipo 2 (BONNEFOND et al., 2012).

Os resultados de animais e os estudos genéticos em humanos sugerem, portanto, que a baixa produção de melatonina ou a sinalização reduzida da melatonina podem prejudicar a sensibilidade à insulina e levar ao diabetes tipo 2. Assim, em função dos resultados descritos acima, verifica-se que o estado diabético induz mudança no metabolismo energético, além de diminuir significativamente a síntese de melatonina pineal, agravando o quadro. Ademais, alguns autores sugerem que a própria gênese de alguns casos de diabetes tipo 2 estão associados a SNPs do receptor Mtnr1B (MT2) de melatonina.

CONCLUSÕES

Nossos resultados demonstram que o tratamento com melatonina melhora o quadro fisiopatológico do diabetes DM2 em ratos Goto Kakizaki. O tratamento foi eficaz em melhorar o metabolismo da glicose como demonstrado nos testes de GTT e ITT no ZT 14, além de aumentar a pAKT no tecido hepático no ZT 2. Com isso, fica evidente o papel terapêutico da suplementação com melatonina nesse modelo experimental.

Entretanto, faz-se necessário novos estudos para aperfeiçoar o entendimento dos mecanismos moleculares envolvidos na sinalização insulínica, bem como na qualidade da insulina produzida pelos ratos GK.

REFERÊNCIAS

ADA. CLASSIFICATION AND DIAGNOSIS OF DIABETES: STANDARDS OF MEDICAL CARE IN DIABETES. In: **AMERICAN DIABETES ASSOCIATION**. [s.l: s.n.]. p. 41(SUPPL 1):S13–27;

AEKPLAKORN, W. et al. A Risk Score for Predicting Incident Diabetes in the Thai Population. **Diabetes Care**, v. 29, n. 8, p. 1872–1877, 2006.

AKASH, M. S. H. et al. Alternate therapy of Type 2 diabetes mellitus (T2DM) with *Nigella* (Ranunculaceae). **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 31, p. 6885–6889, 2011.

AKASH, M. S. H. et al. Interleukin-1 receptor antagonist: a new therapy for type 2 diabetes mellitus. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 101, n. 5, p. 1647–58, 2012.

AKASH, M. S.; REHMAN, K.; CHEN, S. Goto-Kakizaki rats: its suitability as non-obese diabetic animal model for spontaneous type 2 diabetes mellitus. **Current diabetes reviews**, v. 9, n. 5, p. 387–96, 2013.

AMARAL, F. G. DO et al. **New insights into the function of melatonin and its role in metabolic disturbances** *Expert Review of Endocrinology and Metabolism* Taylor and Francis Ltd, , 4 jul. 2019.

AMARAL F. G., ANDRADE-SILVA J, KUWABARA W. M. T, C.-N. J. **New insights into the function of melatonin and its role in metabolic disturbances - PubMed.**

AMARAL, F. G. et al. Melatonin synthesis impairment as a new deleterious outcome of diabetes-derived hyperglycemia. **Journal of Pineal Research**, 2014.

ANHÊ, G. F. et al. In vivo activation of insulin receptor tyrosine kinase by melatonin in the rat hypothalamus. **Journal of neurochemistry**, v. 90, n. 3, p. 559–66, 2004.

ANOTHASINTAWEE, T. et al. Later chronotype is associated with higher hemoglobin A1c in prediabetes patients. **Chronobiology international**, v. 34, n. 3, p. 393–402, 2017.

ARENDDT, J. **Melatonin and the mammalian pineal gland**. London: [s.n.].

ARMSTRONG, S. M. Melatonin and circadian control in mammals. **Experientia**, v. 45, n. 10, p. 932–8, 1989.

AVRUCH, J. Insulin signal transduction through protein kinase cascades. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 182, n. 1–2, p. 31–48, 1998.

BALER, R.; KLEIN, D. C. Circadian expression of transcription factor Fra-2 in the rat pineal gland. **The Journal of biological chemistry**, v. 270, n. 45, p. 27319–25, 1995.

BECKER, A. B.; ROTH, R. A. Insulin Receptor Structure and Function in Normal and Pathological Conditions. **Annual Review of Medicine**, v. 41, n. 1, p. 99–115, 1990.

BENOIT, S. C. et al. Insulin and leptin as adiposity signals. **Recent progress in hormone research**, v. 59, p. 267–85, 2004.

BERTHELIER, C.; KERGOAT, M.; PORTHA, B. Lack of deterioration of insulin action with aging in the GK rat: a contrasted adaptation as compared with nondiabetic rats. **Metabolism: clinical and experimental**, v. 46, n. 8, p. 890–6, ago. 1997.

BISBIS, S. et al. Insulin resistance in the GK rat: Decreased receptor number but normal kinase activity in liver. **AM.J.PHYSIOL.**, 1993a.

BISBIS, S. et al. Insulin resistance in the GK rat: decreased receptor number but normal kinase activity in liver. **The American journal of physiology**, v. 265, n. 5 Pt 1, p. E807-13, nov. 1993b.

BOGAN, J. S. Regulation of Glucose Transporter Translocation in Health and Diabetes. **Annual Review of Biochemistry**, v. 81, n. 1, p. 507–532, 2012.

BONNEFOND, A. et al. Rare MTNR1B variants impairing melatonin receptor 1B function contribute to type 2 diabetes. **Nature genetics**, v. 44, n. 3, p. 297–301, 2012.

BORGES-SILVA, C. N. et al. Pinealectomy impairs adipose tissue adaptability to exercise in rats. **Journal of Pineal Research**, v. 38, n. 4, p. 278–283, maio 2005.

BORJIGIN, J.; WANG, M. M.; SNYDER, S. H. Diurnal variation in mRNA

encoding serotonin N-acetyltransferase in pineal gland. **Nature**, v. 378, n. 6559, p. 783–785, 1995.

BOUATIA-NAJI, N. et al. A variant near MTNR1B is associated with increased fasting plasma glucose levels and type 2 diabetes risk. **Nature Genetics**, v. 41, n. 1, p. 89–94, 2009.

BOURA-HALFON, S.; ZICK, Y. Phosphorylation of IRS proteins, insulin action, and insulin resistance. **AJP: Endocrinology and Metabolism**, v. 296, n. 4, p. E581–E591, 2009.

CALLEJA, V. et al. Intramolecular and intermolecular interactions of protein kinase B define its activation in vivo. **PLoS biology**, v. 5, n. 4, p. e95, 2007.

CANIVELL, S.; GOMIS, R. Diagnosis and classification of autoimmune diabetes mellitus. **Autoimmunity Reviews**, v. 13, n. 4–5, p. 403–407, 2014.

CHIK, C. L. et al. Histone H3 Phosphorylation in the Rat Pineal Gland: Adrenergic Regulation and Diurnal Variation. **Endocrinology**, v. 148, n. 4, p. 1465–1472, 2007.

CHIK, C. L.; HO, A. K.; KLEIN, D. C. Alpha 1-adrenergic potentiation of vasoactive intestinal peptide stimulation of rat pinealocyte adenosine 3',5'-monophosphate and guanosine 3',5'-monophosphate: evidence for a role of calcium and protein kinase-C. **Endocrinology**, v. 122, n. 2, p. 702–8, 1988.

CIPOLLA-NETO, J.; AFECHE, S. C. Glândula Pineal. In: GUANABARA KOOGAN (Ed.). . **Fisiologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: [s.n.]. p. 981–990.

CIPOLLA-NETO, J.; AFECHE, S. C. Glândula Pineal. In: GUANABARA KOOGAN (Ed.). . **Fisiologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: [s.n.]. p. 1045–1053.

CIPOLLA-NETO, J. et al. The role of the retrochiasmatic area in the control of pineal metabolism. **Neuroendocrinology**, v. 69, n. 2, p. 97–104, 1999.

CIPOLLA-NETO, J. et al. Melatonin, energy metabolism, and obesity: a review. **Journal of Pineal Research**, v. 56, n. 4, p. 371–381, 2014.

CIPOLLA-NETO, J.; DO AMARAL, F. G. MELATONIN AS A HORMONE: NEW PHYSIOLOGICAL AND CLINICAL INSIGHTS. **Endocrine Reviews**, v. 39, n.

6, p. 990–1028, 12 set. 2018.

CIPOLLA NETO, J.; AFECHE, S. C. Glândula pineal: fisiologia celular e função. In: **Tratado de Endocrinologia Clínica**. Roca ed. São Paulo: [s.n.]. p. 83–93.

COPP, S. W. et al. Effects of type II diabetes on exercising skeletal muscle blood flow in the rat. **Journal of Applied Physiology**, v. 109, n. 5, p. 1347–1353, nov. 2010.

COSTES, S. et al. Activation of Melatonin Signaling Promotes β -Cell Survival and Function. **Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)**, v. 29, n. 5, p. 682–92, 2015.

DEFRONZO, R. A. et al. Type 2 diabetes mellitus. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 1, p. 15019, 2015.

DEMIDOVA, T. I.; AMETOV, A. S.; TITOVA, O. I. [Metabolic and hemodynamic effects of pioglitazone in obese patients with type 2 diabetes]. **Klinicheskaia meditsina**, v. 84, n. 10, p. 44–8, 2006.

DONATH, M. Y.; SHOELSON, S. E. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. **Nature reviews. Immunology**, v. 11, n. 2, p. 98–107, 2011.

EHSES, J. A. et al. Increased number of islet-associated macrophages in type 2 diabetes. **Diabetes**, v. 56, n. 9, p. 2356–70, set. 2007.

EHSES, J. A. et al. IL-1 antagonism reduces hyperglycemia and tissue inflammation in the type 2 diabetic GK rat. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 33, p. 13998–4003, 2009.

EKSTRÖM, P.; MEISSL, H. Evolution of photosensory pineal organs in new light: the fate of neuroendocrine photoreceptors. **Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences**, v. 358, n. 1438, p. 1679–700, 2003.

FORRESTEL, A. C. et al. Chronomedicine and type 2 diabetes: shining some light on melatonin. **Diabetologia**, v. 60, n. 5, p. 808–822, 2017.

FRAME, S.; COHEN, P. GSK3 takes centre stage more than 20 years after its discovery. **The Biochemical journal**, v. 359, n. Pt 1, p. 1–16, 2001.

FRASCHINI, F. et al. Melatonin involvement in immunity and cancer. **Biological**

signals and receptors, v. 7, n. 1, p. 61–72, 1990.

FRAYN, K. N. Adipose tissue as a buffer for daily lipid flux. **Diabetologia**, v. 45, n. 9, p. 1201–10, 2002.

FRESE, T. et al. Pineal melatonin synthesis is decreased in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. **Life Sciences**, v. 85, n. 13–14, p. 526–533, 2009.

GALLI, J. et al. Genetic analysis of non-insulin dependent diabetes mellitus in the GK rat. **Nature Genetics**, v. 12, n. 1, p. 31–37, jan. 1996.

GANGULY, S. et al. Role of a pineal cAMP-operated arylalkylamine N-acetyltransferase/14-3-3-binding switch in melatonin synthesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 98, n. 14, p. 8083–8, 2001.

GARCIA-MAURÍÑO, S. et al. Melatonin enhances IL-2, IL-6, and IFN-gamma production by human circulating CD4+ cells: a possible nuclear receptor-mediated mechanism involving T helper type 1 lymphocytes and monocytes. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 159, n. 2, p. 574–81, 1997.

GARDNER, D.; TAI, E. S. Clinical features and treatment of maturity onset diabetes of the young (MODY). **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, v. 5, p. 101, 2012.

GAUGUIER, D. et al. Chromosomal mapping of genetic loci associated with non-insulin dependent diabetes in the GK rat. **Nature Genetics**, v. 12, n. 1, p. 38–43, jan. 1996.

GIBSON, T. et al. Diurnal variation in the effects of insulin on blood glucose, plasma non-esterified fatty acids and growth hormone. **Diabetologia**, v. 11, n. 1, p. 83–8, fev. 1975.

GILLETTE, M. U.; MCARTHUR, A. J. Circadian actions of melatonin at the suprachiasmatic nucleus. **Behavioural brain research**, v. 73, n. 1–2, p. 135–9, 1996.

GIROIX, M. H. et al. Hypercholesterolaemia, signs of islet microangiopathy and altered angiogenesis precede onset of type 2 diabetes in the Goto-Kakizaki (GK) rat. **Diabetologia**, v. 54, n. 9, p. 2451–2462, set. 2011.

GOLDMAN, B. D. Mammalian photoperiodic system: formal properties and neuroendocrine mechanisms of photoperiodic time measurement. **Journal of biological rhythms**, v. 16, n. 4, p. 283–301, 2001.

GOTO Y, KAKIZAKI; M, M. N. . Spontaneous diabetes produced by selective breeding of normal Wistar rats. **Proc Jpn Acad**, v. 51, p. 80–85, 1975.

GOTO, Y.; KAKIZAKI, M.; MASAKI, N. Production of spontaneous diabetic rats by repetition of selective breeding. **The Tohoku journal of experimental medicine**, v. 119, n. 1, p. 85–90, 1976.

HA, E. et al. Melatonin stimulates glucose transport via insulin receptor substrate-1/phosphatidylinositol 3-kinase pathway in C2C12 murine skeletal muscle cells. **Journal of pineal research**, v. 41, n. 1, p. 67–72, 2006.

HARDELAND, R. Melatonin and the pathologies of weakened or dysregulated circadian oscillators. **Journal of Pineal Research**, v. 62, n. 1, p. e12377, 2017.

HENRIKSEN, E. J. et al. Glucose transporter protein content and glucose transport capacity in rat skeletal muscles. **The American journal of physiology**, v. 259, n. 4 Pt 1, p. E593-8, 1990.

HICKEY, M. S. et al. Skeletal muscle fiber composition is related to adiposity and in vitro glucose transport rate in humans. **The American journal of physiology**, v. 268, n. 3 Pt 1, p. E453-7, mar. 1995.

IDF. **INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION**. 6. ed. [s.l.] Diabetes Atlas, 2013.

IDF. **INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION**. 7. ed. [s.l.] Diabetes Atlas, 2015.

IDF. IDF. **INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. DIABETES ATLAS**, p. 9 ed, 2019.

IHARA, Y. et al. Hyperglycemia causes oxidative stress in pancreatic beta-cells of GK rats, a model of type 2 diabetes. **Diabetes**, v. 48, n. 4, p. 927–32, 1999.

JARRETT, R. J. et al. Diurnal variation in oral glucose tolerance: blood sugar and plasma insulin levels morning, afternoon, and evening. **British medical journal**, v. 1, n.

5794, p. 199–201, 22 jan. 1972.

JENSEN, M. V et al. Metabolomics applied to islet nutrient sensing mechanisms. **Diabetes, obesity & metabolism**, v. 19 Suppl 1, p. 90–94, 2017.

JING HE, SIMON WATKINS, D. K. Skeletal muscle lipid content and oxidative enzyme activity in relation to muscle fiber type in type 2 diabetes and obesity. - PubMed - NCBI. **Diabetes**, v. 50, p. 817–823, 2001.

KAHN, B. B. Facilitative glucose transporters: regulatory mechanisms and dysregulation in diabetes. **The Journal of clinical investigation**, v. 89, n. 5, p. 1367–74, 1992.

KAPPERS, J. A. The development, topographical relations and innervation of the epiphysis cerebri in the albino rat. **Zeitschrift fur Zellforschung und mikroskopische Anatomie (Vienna, Austria : 1948)**, v. 52, p. 163–215, 1960.

KIM, K.-H.; WOO, H.-Y.; LIM, S.-W. Association Study of a Serotonin Receptor 2A Gene -1438A/G Polymorphism and Anxiety-Related Traits. **Psychiatry investigation**, v. 5, n. 4, p. 244–6, 2008.

KLEIN, D. C. The pineal gene expression party: who's the surprise guest? **Endocrinology**, v. 148, n. 4, p. 1463–4, 2007.

KLEIN, D. C.; SUGDEN, D.; WELLER, J. L. Postsynaptic alpha-adrenergic receptors potentiate the beta-adrenergic stimulation of pineal serotonin N-acetyltransferase. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 80, n. 2, p. 599–603, 1983.

KOERNER, A.; KRATZSCH, J.; KIESS, W. Adipocytokines: leptin—the classical, resistin—the controversial, adiponectin—the promising, and more to come. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 19, n. 4, p. 525–546, dez. 2005.

KROOK, A. et al. Improved glucose tolerance restores insulin-stimulated Akt kinase activity and glucose transport in skeletal muscle from diabetic Goto-Kakizaki rats. **Diabetes**, 1997.

KROOK, A. et al. Characterization of signal transduction and glucose transport in

skeletal muscle from type 2 diabetic patients. **Diabetes**, v. 49, n. 2, p. 284–92, 2000.

KUWABARA, W. M. T. et al. Comparison of Goto-Kakizaki rats and high fat diet-induced obese rats: Are they reliable models to study Type 2 Diabetes mellitus? **PLOS ONE**, v. 12, n. 12, p. e0189622, 8 dez. 2017.

LACRAZ, G. et al. Diabetic beta-cells can achieve self-protection against oxidative stress through an adaptive up-regulation of their antioxidant defenses. **PloS one**, v. 4, n. 8, p. e6500, 2009.

LACRAZ, G. et al. Diabetic GK/Par rat beta-cells are spontaneously protected against H₂O₂-triggered apoptosis. A cAMP-dependent adaptive response. **American journal of physiology. Endocrinology and metabolism**, v. 298, n. 1, p. E17-27, 2010.

LEAR, S. A. et al. Visceral adipose tissue accumulation differs according to ethnic background: results of the Multicultural Community Health Assessment Trial (M-CHAT). **The American journal of clinical nutrition**, v. 86, n. 2, p. 353–9, 2007.

LEE, K. Y. et al. Tbx15 controls skeletal muscle fibre-type determination and muscle metabolism. **Nature communications**, v. 6, p. 8054, ago. 2015.

LEIBOWITZ, A. et al. The Role of Melatonin in the Pathogenesis of Hypertension in Rats With Metabolic Syndrome. **American Journal of Hypertension**, v. 21, n. 3, p. 348–351, 2008.

LIN, H. V; ACCILI, D. Hormonal regulation of hepatic glucose production in health and disease. **Cell metabolism**, v. 14, n. 1, p. 9–19, 2011.

MAAHS, D. M. et al. Epidemiology of type 1 diabetes. **Endocrinology and metabolism clinics of North America**, v. 39, n. 3, p. 481–97, 2010.

MÅRIN, P. et al. Muscle fiber composition and capillary density in women and men with NIDDM. **Diabetes care**, v. 17, n. 5, p. 382–6, maio 1994.

MARONDE, E. et al. Transcription factors in neuroendocrine regulation: rhythmic changes in pCREB and ICER levels frame melatonin synthesis. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 19, n. 9, p. 3326–36, 1999.

MCMULLAN, C. J. et al. Melatonin Secretion and the Incidence of Type 2

Diabetes. **JAMA**, v. 309, n. 13, p. 1388, 2013.

MILBURN, C. C. et al. Binding of phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate to the pleckstrin homology domain of protein kinase B induces a conformational change. **The Biochemical journal**, v. 375, n. Pt 3, p. 531–8, 2003.

MJ, MCKINLEY, RM MCALLEN, FAO MENDELSON, AM ALLEN, SY CHAI, B. O. Circumventricular organs: Neuroendocrine interfaces between the brain and the hemal milieu. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 11, n. 2, p. 91–127, 1990.

MOLLER, M. **Fine structure of the pinealopetal innervation of the mammalian pineal gland** *Microscopy Research and Technique*, 1992.

MONTANO, M. E. et al. Effect of melatonin supplementation on food and water intake in streptozotocin-diabetic and non-diabetic male Wistar rats. **Nutricion hospitalaria**, v. 25, n. 6, p. 931–8, 2010.

MOORE, R. Y.; SPEH, J. C.; CARD, J. P. The retinohypothalamic tract originates from a distinct subset of retinal ganglion cells. **The Journal of comparative neurology**, v. 352, n. 3, p. 351–66, 1995.

MOVASSAT, J. et al. Type 2 diabetes - a matter of failing B-cell neogenesis? Clues from the GK rat model. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 9, n. s2, p. 187–195, nov. 2007.

MOVASSAT, J. et al. Follow-up of GK rats during prediabetes highlights increased insulin action and fat deposition despite low insulin secretion. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, 2008.

NAKAE, J. et al. The forkhead transcription factor Foxo1 (Fkhr) confers insulin sensitivity onto glucose-6-phosphatase expression. **The Journal of clinical investigation**, v. 108, n. 9, p. 1359–67, 2001.

NEWSHOLME, E. A.; DIMITRIADIS, G. Integration of biochemical and physiologic effects of insulin on glucose metabolism. **Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association**, v. 109 Suppl, n. Suppl 2, p. S122-34, 2001.

NOGUEIRA, T. C. et al. Absence of melatonin induces night-time hepatic insulin

resistance and increased gluconeogenesis due to stimulation of nocturnal unfolded protein response. **Endocrinology**, v. 152, n. 4, p. 1253–63, 2011.

NYHOLM, B. et al. Evidence of an increased number of type IIb muscle fibers in insulin-resistant first-degree relatives of patients with NIDDM. **Diabetes**, v. 46, n. 11, p. 1822–8, nov. 1997.

O'NEILL, B. T. et al. Differential Role of Insulin/IGF-1 Receptor Signaling in Muscle Growth and Glucose Homeostasis. **Cell reports**, v. 11, n. 8, p. 1220–35, 2015.

PADILLA, D. J. et al. Effects of Type II diabetes on capillary hemodynamics in skeletal muscle. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 291, n. 5, p. H2439-44, nov. 2006.

PADILLA, D. J. et al. Effects of Type II diabetes on muscle microvascular oxygen pressures. **Respiratory physiology & neurobiology**, v. 156, n. 2, p. 187–95, maio 2007a.

PADILLA, D. J. et al. Effects of Type II diabetes on muscle microvascular oxygen pressures. **Respiratory Physiology and Neurobiology**, v. 156, n. 2, p. 187–195, 14 maio 2007b.

PANDA, S. **Circadian physiology of metabolism** Science American Association for the Advancement of Science, , 25 nov. 2016. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27885007/>>. Acesso em: 24 ago. 2020

PANG, S. F.; DUBOCOVICH, M. L.; BROWN, G. M. Melatonin receptors in peripheral tissues: a new area of melatonin research. **Biological signals**, v. 2, n. 4, p. 177–80, [s.d.].

PANG, S. F.; TANG, F.; TANG, P. L. Alloxan-induced diabetes and the pineal gland: differential effects on the levels of pineal N-acetylserotonin, pineal melatonin, and serum melatonin. **Journal of pineal research**, v. 2, n. 1, p. 79–85, 1985.

PATEL, H.; GIRI, P.; SRINIVAS, N. R. Review of Pharmacokinetic Data of Different Drug Classes in Goto-Kakizaki Rats, a Non-obese Model for Type 2 Diabetes Mellitus: Case Studies and Perspectives. **European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, v. 42, n. 2, p. 173–182, 2017.

PICAREL-BLANCHOT, F. et al. Impaired insulin secretion and excessive

hepatic glucose production are both early events in the diabetic GK rat. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 271, n. 4, p. E755–E762, out. 1996a.

PICAREL-BLANCHOT, F. et al. Impaired insulin secretion and excessive hepatic glucose production are both early events in the diabetic GK rat. **The American journal of physiology**, v. 271, n. 4 Pt 1, p. E755-62, out. 1996b.

PORTHA, B. et al. The GK rat beta-cell: A prototype for the diseased human beta-cell in type 2 diabetes? **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 297, n. 1–2, p. 73–85, jan. 2009a.

PORTHA, B. et al. The GK rat beta-cell: A prototype for the diseased human beta-cell in type 2 diabetes? **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 297, n. 1–2, p. 73–85, 15 jan. 2009b.

PRASAD, R. B.; GROOP, L. Genetics of type 2 diabetes-pitfalls and possibilities. **Genes**, v. 6, n. 1, p. 87–123, 2015.

PROKOPENKO, I. et al. Variants in MTNR1B influence fasting glucose levels. **Nature Genetics**, v. 41, n. 1, p. 77–81, 2009.

RAMACHANDRAN, A. Epidemiology of diabetes in India--three decades of research. **The Journal of the Association of Physicians of India**, v. 53, p. 34–8, 2005.

RAMNANAN, C. J. et al. Physiologic action of glucagon on liver glucose metabolism. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 13, p. 118–125, 2011.

REITER, R. J. Pineal Melatonin: Cell Biology of Its Synthesis and of Its Physiological Interactions*. **Endocrine Reviews**, v. 12, n. 2, p. 151–180, 1991.

REPPERT, S. M.; WEAVER, D. R.; GODSON, C. Melatonin receptors step into the light: cloning and classification of subtypes. **Trends in pharmacological sciences**, v. 17, n. 3, p. 100–2, 1996.

RICHTER, B. et al. **Development of type 2 diabetes mellitus in people with intermediate hyperglycaemia** Cochrane Database of Systematic Reviews John Wiley and Sons Ltd, , 29 out. 2018.

ROBERTSON, R. P.; HARMON, J. S. Diabetes, glucose toxicity, and oxidative

stress: A case of double jeopardy for the pancreatic islet beta cell. **Free radical biology & medicine**, v. 41, n. 2, p. 177–84, 2006.

RUBIO-SASTRE, P. et al. Acute melatonin administration in humans impairs glucose tolerance in both the morning and evening. **Sleep**, v. 37, n. 10, p. 1715–9, 2014.

SAMUEL, V. T.; SHULMAN, G. I. Mechanisms for Insulin Resistance: Common Threads and Missing Links. **Cell**, v. 148, n. 5, p. 852–871, 2012.

SAMUEL, V. T.; SHULMAN, G. I. The pathogenesis of insulin resistance: integrating signaling pathways and substrate flux. **The Journal of clinical investigation**, v. 126, n. 1, p. 12–22, 2016.

SCHAAD, N. C. et al. Vasoactive intestinal peptide elevates pinealocyte intracellular calcium concentrations by enhancing influx: evidence for involvement of a cyclic GMP-dependent mechanism. **Molecular pharmacology**, v. 47, n. 5, p. 923–33, 1995.

SHULMAN, G. I. et al. Quantitation of muscle glycogen synthesis in normal subjects and subjects with non-insulin-dependent diabetes by ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy. **The New England journal of medicine**, v. 322, n. 4, p. 223–8, 1990.

SIMONNEAUX, V.; RIBELAYGA, C. Generation of the melatonin endocrine message in mammals: a review of the complex regulation of melatonin synthesis by norepinephrine, peptides, and other pineal transmitters. **Pharmacological reviews**, v. 55, n. 2, p. 325–95, 2003.

SMIRNOV, A. N. Nuclear melatonin receptors. **Biochemistry. Biokhimiia**, v. 66, n. 1, p. 19–26, 2001.

SONG, X. M. et al. Muscle fiber type-specific defects in insulin signal transduction to glucose transport in diabetic GK rats. **Diabetes**, v. 48, n. 3, p. 664–670, 1999.

SPESSERT, R. et al. A differential role of CREB phosphorylation in cAMP-inducible gene expression in the rat pineal. **Brain research**, v. 864, n. 2, p. 270–80, 2000.

STEILER, T. L. et al. Effect of Hyperglycemia on Signal Transduction in Skeletal

Muscle from Diabetic Goto-Kakizaki Rats. **Endocrinology**, 2003.

STEINHILBER, D. et al. The nuclear receptor for melatonin represses 5-lipoxygenase gene expression in human B lymphocytes. **The Journal of biological chemistry**, v. 270, n. 13, p. 7037–40, 1995.

SUGDEN, D.; KLEIN, D. C. Activators of protein kinase C act at a postreceptor site to amplify cyclic AMP production in rat pinealocytes. **Journal of neurochemistry**, v. 50, n. 1, p. 149–55, 1988.

SWANSON, L. W. **Brain Maps: structure of the rat brain**. 2. ed. [s.l: s.n.].

TAN, D. et al. Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger. **Current topics in medicinal chemistry**, v. 2, n. 2, p. 181–97, 2002.

TANIGUCHI, C. M.; EMANUELLI, B.; KAHN, C. R. Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action. **Nature reviews. Molecular cell biology**, v. 7, n. 2, p. 85–96, 2006.

TANNER, C. J. et al. Muscle fiber type is associated with obesity and weight loss. **American journal of physiology. Endocrinology and metabolism**, v. 282, n. 6, p. E1191-6, jun. 2002.

TCHIO, C. et al. Removal of melatonin receptor type 1 signalling induces dyslipidaemia and hormonal changes in mice subjected to environmental circadian disruption. **Endocrinology, Diabetes & Metabolism**, 10 set. 2020.

THOMAS, C. C. et al. High-resolution structure of the pleckstrin homology domain of protein kinase b/akt bound to phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate. **Current biology : CB**, v. 12, n. 14, p. 1256–62, 2002.

TITCHENELL, P. M.; LAZAR, M. A.; BIRNBAUM, M. J. Unraveling the Regulation of Hepatic Metabolism by Insulin. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 28, n. 7, p. 497–505, 2017.

ULLRICH, A.; SCHLESSINGER, J. Signal transduction by receptors with tyrosine kinase activity. **Cell**, v. 61, n. 2, p. 203–12, 1990.

VAN GEIJLSWIJK, I. M.; KORZILIUS, H. P. L. M.; SMITS, M. G. The use of

exogenous melatonin in delayed sleep phase disorder: a meta-analysis. **Sleep**, v. 33, n. 12, p. 1605–14, 2010.

VANECEK, J. et al. Atypical synergistic alpha 1- and beta-adrenergic regulation of adenosine 3',5'-monophosphate and guanosine 3',5'-monophosphate in rat pinealocytes. **Endocrinology**, v. 116, n. 6, p. 2167–73, 1985.

WHICHELOW, M. J. et al. Diurnal variation in response to intravenous glucose. **British medical journal**, v. 1, n. 5906, p. 488–91, 16 mar. 1974.

WHO. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. report of a WHO consultation. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. In: **World Health Organization**. [s.l: s.n.].

WHO. Obesity and overweight. In: **World Health Organization**. [s.l.] World Health Organization, 2017. p. 4.

YAJNIK, C. S. et al. Adiposity and Hyperinsulinemia in Indians Are Present at Birth. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 87, n. 12, p. 5575–5580, 2002.

YOON, K.-H. et al. Epidemic obesity and type 2 diabetes in Asia. **The Lancet**, v. 368, n. 9548, p. 1681–1688, 2006.

ZANQUETTA, M. M. et al. Calorie restriction reduces pinealectomy-induced insulin resistance by improving GLUT4 gene expression and its translocation to the plasma membrane. **Journal of pineal research**, v. 35, n. 3, p. 141–8, 2003.

ZANUTO, R. et al. Melatonin improves insulin sensitivity independently of weight loss in old obese rats. **Journal of Pineal Research**, v. 55, n. 2, p. 156–165, set. 2013.

ZICK, Y. Uncoupling insulin signalling by serine/threonine phosphorylation: a molecular basis for insulin resistance. **Biochemical Society transactions**, v. 32, n. Pt 5, p. 812–6, 2004.

ZIMMET, P.; ALBERTI, K. G. M. M.; SHAW, J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. **Nature**, v. 414, n. 6865, p. 782–787, 2001.

ZIMMET, P. Z. et al. Diurnal variation in glucose tolerance: associated changes

in plasma insulin, growth hormone, and non-esterified fatty acids. **British medical journal**, v. 1, n. 5906, p. 485–8, 16 mar. 1974.