

LUCIANA TOCCI BELPIEDE

Caracterização e influência da ausência e da reposição terapêutica de melatonina materna sobre o metabolismo energético, hepático e adiposo de descendentes machos submetidos a diferentes desafios ambientais

Tese apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Fisiologia Humana do Instituto de Ciências Biomédicas I da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Fisiologia Humana

Orientador: Professor Doutor José Cipolla Neto

Versão Corrigida. A versão original eletrônica encontra-se disponível tanto na Biblioteca do ICB quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da UPS (BDTD).

São Paulo
2020

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), CNPq (142258/2018-0) e FAPESP (2014/50457-0)

RESUMO

BELPIEDE, L.T. Caracterização e influência da ausência e da reposição terapêutica de melatonina materna sobre o metabolismo energético, hepático e adiposo de descendentes machos submetidos a diferentes desafios ambientais. 2020. 126 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Humana) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

A melatonina é produzida por todo ser vivo, sistemicamente, pela glândula pineal e é capaz de controlar diversas funções fisiológicas, além de modular a interface materno-fetal. A melatonina materna possui importante função na maturação de ritmicidade do feto e no preparo do neonato às interações/desafios com o meio externo, além de ser imprescindível em seu desenvolvimento metabólico. O tecido hepático exerce diversas funções metabólicas para garantir a homeostase glicêmica, além de utilizar glicose, o fígado é capaz de sintetizá-la e liberá-la para a circulação sanguínea em determinadas situações. A insulina liberada em período pós-prandial, interage com receptores específicos e promove uma cascata de sinalização intracelular responsável pela ativação de enzimas específicas que, por sua vez, recrutam fatores transcricionais reguladores de genes lipogênicos, entretanto, na resistência à insulina hepática, essas vias não se ativam e recrutam-se vias associadas a gliconeogênese, por exemplo. O tecido adiposo branco, que há tempos foi reconhecido apenas por sua função no armazenamento, atualmente é considerado significativo para homeostase energética: quanto maior seu volume, maior sua participação na homeostase glicêmica, porém, quando a resistência à insulina se instala nesse tecido, pode exacerbar a hiperglicemia e provocar desajustes metabólicos. Em conjunto com demais tecidos metabolicamente ativos, o tecido adiposo marrom também participa da homeostase energético por meio do controle da temperatura corporal com aumento no consumo de energia pela termogênese, além de se correlacionar, na idade adulta, com melhor sensibilidade à insulina e controle glicêmico. O objetivo do trabalho foi caracterizar a influência da ausência de melatonina materna, durante a gestação e lactação, em tecidos metabolicamente ativos e o impacto funcional dessas características no perfil metabólico de descendentes machos submetidos a diferentes desafios ambientais. O estudo foi inicialmente conduzido com ratas wistar que constituíram os seguintes grupos experimentais: grupo controle; grupo com ausência experimental de melatonina pineal (pinelectomizadas) e grupo de fêmeas pinelectomizadas com reposição oral terapêutica de melatonina a 1mg/Kg peso/dia. Para seus descendentes machos, cada grupo foi subdividido de acordo com a ração experimental a ser utilizada (ração normolipídica e ração hiperlipídica), ao longo de 12 semanas, cuja principal diferença relaciona-se à

distribuição de macronutrientes. As evidências mostraram que, filhotes de mães pinealectomizadas apresentaram aumento de peso corporal no desmame, maior índice de Lee, maior glicemia e resistência à insulina; reduzida expressão do transportador de glicose em tecidos adiposos branco e marrom, aumento de expressão de alguns genes termogênicos e de diferenciação celular no tecido adiposo marrom que, por sua vez, não correponderam à eficiência funcional observadas nas análises de termografia, e maior dificuldade em termorregular pela cauda. A ausência materna de melatonina durante a gestação impactou em características metabólicas da prole com diferente magnitude nos parâmetros metabólicos, moleculares e funcionais de seus descendentes machos.

Palavras-chave: Melatonina materna. Metabolismo energético. Sensibilidade à insulina. Tecido adiposo. Tecido hepático

ABSTRACT

BELPIEDE, L.T. Characterization and influences of the absence and therapeutic replacement of maternal melatonin on the energy, hepatic and adipose metabolism of male offspring subjected to different environmental challenges. 2020. 126 p. PhD thesis (Human Physiology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

In mammals, melatonin, as hormone, is produced by the pineal gland and controls several physiological functions, in addition to modulating the maternal-fetal interface. Maternal melatonin plays an important role in fetal development and programming, preparing the newborn for interactions / challenges with the external environment, and being essential in its metabolic development. Liver and adipose tissue, either white or brown, are important metabolic tissues participating in glucose homeostasis. In order to promote this, the liver performs several metabolic functions. White adipose tissue has long been known only for its energy storage function, but it is currently considered an important player in the control of energy homeostasis. Moreover, brown adipose tissue also participates in energy homeostasis by controlling body temperature with an increase in energy consumption by thermogenesis, in addition to correlating, in adulthood, with better insulin sensitivity and glycemic control. The aim of the study was to characterize the influences of the absence of maternal melatonin, during pregnancy and lactation, on the above metabolically active tissues and the functional impact of these characteristics on the metabolic profile of male offspring subjected to different environmental challenges. The study was conducted with Wistar rats that constituted the following experimental groups: offspring to a control group of intact dams; offspring to a group of pinealectomized dams (absence of maternal melatonin during gestation and lactation) and offspring to a group of pinealectomized dams subjected to melatonin replacement therapy (1mg / kg weight / day, during the night). Each group of male offspring was subdivided after weaning according to the experimental diet to be used (normolipidic diet and hyperlipidic diet), over 12 weeks. The results showed, in offspring to pinealectomized mothers, increased body weight at weaning, a higher Lee index, higher blood glucose and insulin resistance; reduced expression of the glucose transporter in white and brown adipose tissues, increased expression of some thermogenic and cell differentiation genes in brown adipose tissues, which, in turn, did not show functional efficiency in thermography analyzes, and greater difficulty in thermoregulation by the tail. Several of these disorders were obviated if the pinealectomized mothers were treated with melatonin during gestation and lactation. In summary, maternal absence of melatonin during pregnancy and lactation impacted the metabolic characteristics of the offspring with different magnitude molecular and functional

parameters of metabolic function in male offspring.

Keywords: Maternal melatonin. Energy metabolism. Insulin sensitivity. Adipose tissue. Liver tissue.

1 INTRODUÇÃO

Durante muito tempo não se identificou qualquer função específica da glândula pineal. Somente no século XVII, foi descrita por René Descartes como uma estrutura responsável pela distribuição de fluidos do cérebro para os músculos e, em 1958, o dermatologista Aaron Lerner identificou e isolou o hormônio produzido pela glândula, a melatonina (ARENDR, 1995).

A secreção de melatonina obedece a um ritmo circadiano endógeno, com duração aproximada de 24 horas, o que não corresponde às exatas 24 horas do ambiente externo e, por esse motivo, é sincronizada/arrastada por pistas ambientais (STENVERS, 2018). Em mamíferos, a luminosidade ambiental (REITER, 1991; STEHLE et al., 2011) é considerada uma das mais significantes pistas uma vez que a produção de melatonina pela glândula pineal ocorre exclusivamente à noite e na ausência de luz. Essa síntese é determinada por um sistema neural que se inicia no núcleo paraventricular hipotalâmico (PVH) e termina no sistema simpático torácico alto associado ao gânglio cervical superior. Esse sistema, por sua vez, é temporizado pelo relógio circadiano central (principal oscilador circadiano), localizado nos núcleos supraquiasmáticos (NSQs), para onde projetam-se os axônios das células ganglionares intrinsecamente fotossensíveis da retina (CIPOLLA-NETO et al., 2014; CIPOLLA-NETO; AMARAL, 2018; MESSNER et al., 2001; PANDI-PERUMAL et al., 2006). Essa população de células retinianas é capaz de detectar alterações de claro-escuro ambiental, converter o estímulo fótico em elétrico, conduzir tal informação ao sistema nervoso central e, desta forma, ser responsável tanto pela sincronização da ritmicidade circadiana ao claro/escuro ambiental quanto ao fenômeno conhecido por fotoinibição noturna que consiste no bloqueio da síntese de melatonina noturna pelos estímulos luminosos ambientais (CIPOLLA-NETO; AMARAL, 2018; PANDI-PERUMAL et al., 2006).

A nível celular, a ritmicidade circadiana expressa-se num processo de transcrição e tradução de certos genes (chamados de genes relógio), composto por alças de retroalimentação positivas e negativas, processo esse que é cíclico e dura aproximadamente 24 horas. A luz ambiental é capaz de ajustar a fase nos relógios centrais presentes nos NSQs e essa temporização é, então, transmitida aos tecidos periféricos por meio de sinalização hormonal (por exemplo, a melatonina) e neural. Alguns outros agentes ambientais, comportamentais e metabólicos podem modular e regular o processo de temporização circadiano do organismo, destaca-se o exercício físico e a ingestão alimentar (ALONSO-VALE et al., 2008; AMARAL et al., 2014; ARCHER et al., 2014; STENVERS, 2018).

O estado alimentado, por exemplo, é capaz de modular desde a absorção dos substratos energéticos a nível gastrointestinal, até a secreção de hormônios facilitadores do processo de absorção e distribuição desses compostos e, com isso, vias metabólicas/bioquímicas predominam à partir do estado em que o organismo se encontra: espera-se que, a privação alimentar durante a noite induza maior circulação plasmática de ácidos graxos livres e aumento de gliconeogênese hepática (posteriormente descrita). Diz-se, então, que o comportamento alimentar pode ser considerado um sincronizador e, a interrupção desse hábito, pode desajustar osciladores periféricos devido à modificação de pistas metabólicas (DRĂGOI, 2019).

Esses eventos são capazes de controlar a transcrição de genes relógio localizados nos tecidos centrais e periféricos o que capacita o organismo como um todo para as oportunidades e desafios alternados que acompanham as modificações associadas ao dia/noite (ALONSO-VALE et al., 2008; AMARAL et al., 2014; ARCHER et al., 2014; STENVERS, 2018).

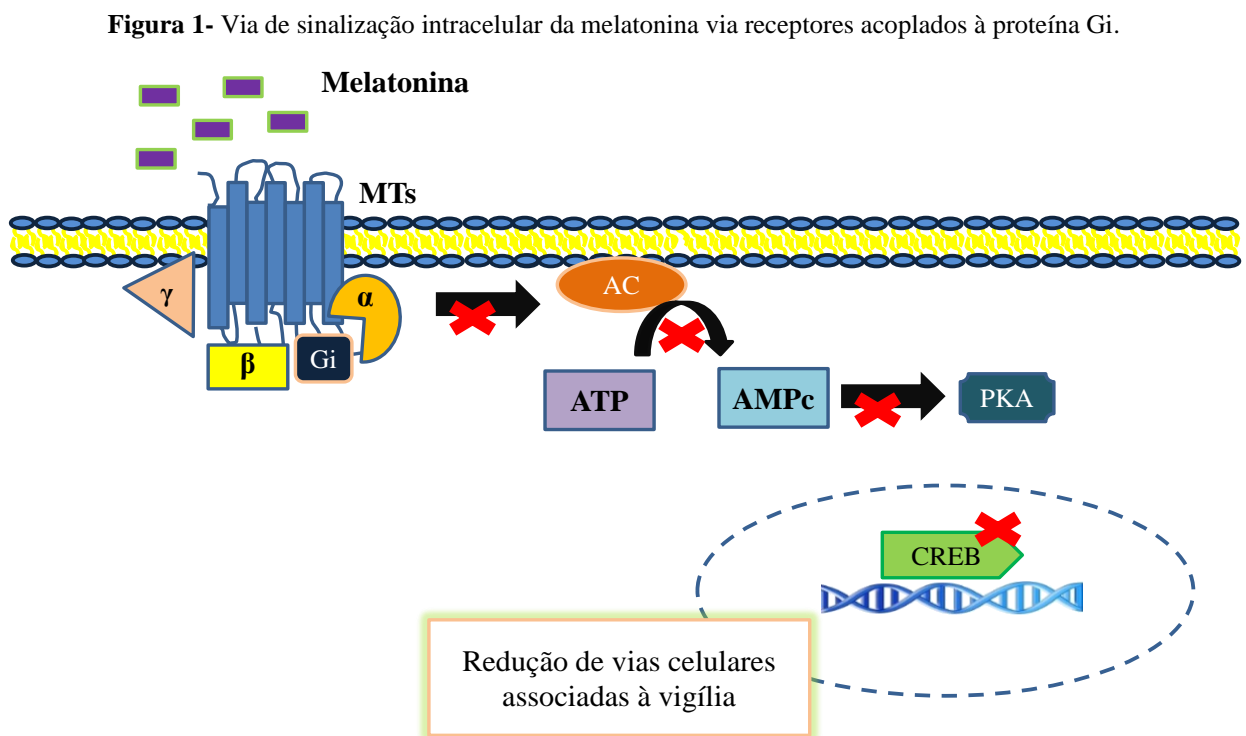
A melatonina é uma indolamina produzida por todos os seres vivos e, portanto, ubiquamente presente na natureza (CIPOLLA-NETO; AMARAL, 2018; GOMEZ et al., 2012; MIGLIORI et al., 2012; STEHLE et al., 2011). Nos vertebrados, a melatonina hormonal, produzida pela glândula pineal, é capaz de controlar inúmeras funções fisiológicas (BUBENIK, 2001), possui ação sistêmica e é secretada tanto para a circulação sanguínea (complexada ou não a albumina) (CIPOLLA-NETO et al., 2014; CIPOLLA-NETO; AMARAL, 2018; PARDRIDGE; MIETUS, 1980) quanto para o fluido cérebro espinhal (CIPOLLA-NETO et al., 2014; CIPOLLA-NETO; AMARAL, 2018; REITER et al., 2014; TRICOIRE et al., 2003). Além disso, a melatonina pode ser sintetizada em diversos tecidos, com ação autócrina e/ou parácrina e, portanto, de exclusivamente local (sistemas respiratório, renal, digestório, cutâneo, retina, placenta, etc.) (CIPOLLA-NETO et al., 2014; CIPOLLA-NETO; AMARAL, 2018; KONTUREK et al., 2007; LEJA-SZPAK et al., 2007; MONTILLA et al., 1998; OKATANI; WAKATSUKI; KANEDA, 2000).

A via de síntese da melatonina inicia-se com o aminoácido essencial triptofano, o qual será hidroxilado, pela enzima triptofano-hidroxilase e originará a molécula 5-hidroxitriptofano, que por sua vez será substrato de uma descarboxilase de aminoácidos aromáticos inespecífica, o que resulta na síntese de serotonina (KLEIN et al., 2002; KLEIN; BERG; WELLER, 1970). A serotonina será acetilada, pela enzima arilalquilamina *N*-acetiltransferase (AANAT), e originará a *N*-acetilserotonina. A expressão/atividade da AANAT é determinante para desviar a serotonina para a via de síntese da melatonina e, portanto, essencial para sua síntese noturna. A partir daí a *N*-acetilserotonina será metilada

pela enzima acetilserotonina metiltransferase (ASMT), também chamada de hidroxindol-*O*-metiltransferase (HIOMT), e finalmente originará a melatonina (*N*-acetil-5-metoxitriptamina) (HUANG; LIU; BORJIGIN, 2010; KLEIN et al., 2002; YU; SCHAAD; KLEIN, 1993).

Nos mamíferos esse mecanismo bioquímico torna-se ativo durante a noite, desde que na ausência de luz (conforme já mencionado), e seu pico de secreção, em seres humanos, na maioria da população, se dá por volta de 2 e 3 horas da manhã. Sua dosagem pode ser diretamente plasmática ou salivar ou, ainda, pela aferição de seu metabólito de excreção urinária, a 6-sulfatoximelatonina, formado a partir de seu metabolismo hepático (REITER, 1996).

Quando secretada, uma das formas de ação da melatonina decorre de sua interação com receptores específicos de membrana, acoplados à proteína G (MT1 ou MTNR1A; MT2 ou MTNR1B). Ao interagir com seus receptores ligados especificamente à proteína G_i , dispara uma via de sinalização intracelular caracterizada pela inibição da enzima adenilato ciclase (AC), a qual modula a conversão de adenosina trifosfato (ATP) em adenosina monofosfato cíclica (AMPc) e, portanto, essa reação estará reduzida e provocará menor concentração de AMPc intracelular. Esses eventos reduzirão a ativação da proteína quinase A (PKA), bem como fatores transcricionais CREB o que pode, por exemplo, inativar diversas vias associadas à vigília (**Figura 1**).

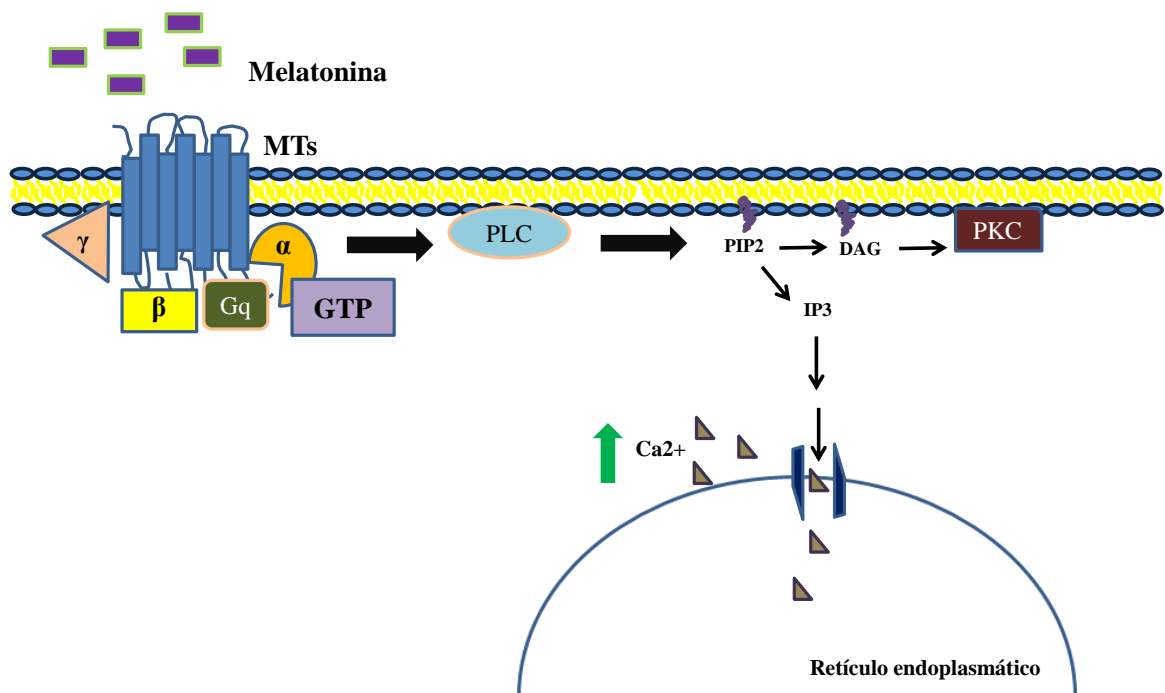


A interação entre melatonina e receptores MT1 ou MT2 acoplados à proteína G_i inibe a via de sinalização

intracelular (AC/ AMPc/ PKA/ CREB) o que promove redução na transcrição de genes, por exemplo, associados ao sistema de vigília (Elaborado pelo próprio autor).

Esses receptores também podem, dependendo do tecido no qual estão presentes, acoplar-se à proteína Gq e, nesse caso, a subunidade α ligada ao GTP ativará fosfolipase C (PLC) de membrana que, por sua vez, clivará fosfatidil inositol-4,5-bifosfato (PIP₂) em dois componentes, o IP₃ (1,4,5-inositol trifosfato) e o DAG (diacilglicerol). IP₃ atua em um receptor específico/canal para Ca²⁺ localizado na membrana do retículo endoplasmático, o que induz liberação de cálcio para o citoplasma; DAG permanece na membrana e ativa proteína quinase C (PKC), a qual, também é dependente de Ca²⁺ (**Figura 2**) (AMARAL et al., 2019; BLASK et al., 2005; CECON; LIU; JOCKERS, 2019; CIPOLLA-NETO et al., 2014; COMAI; GOBBI, 2014; DUBOCOVICH et al., 2010; REPERT; WEAVER; GODSON, 1996).

Figura 2- Via de sinalização intracelular da melatonina via receptores acoplados à proteína Gq.



A interação entre melatonina e receptores MT1 ou MT2 acoplados à proteína Gq ativa a via de sinalização intracelular (GTP/ PLC/ IP₃ e DAG/ Ca²⁺/ PKC) (Elaborado pelo próprio autor).

Os efeitos noturnos da melatonina, dependentes de sua interação com seus aceptores moleculares recebem o nome de “efeitos imediatos”. Por outro lado, a presença noturna de melatonina também é capaz de expressar efeitos quando não mais está presente na circulação sanguínea: são denominados de “efeitos proximais” aqueles manifestados no período da manhã, e “efeitos tardios” aqueles manifestados ao longo do dia (CIPOLLA-NETO;

AMARAL, 2018)

De modo geral, a inibição decorrente à interação de melatonina com receptores cuja via de sinalização intracelular é dependente de proteína Gi é de extrema importância para que essa indolamina determine os chamados “efeitos proximais” ou “consecutivos”, que aparecem imediatamente após cessar a síntese de melatonina pineal, ou seja, na manhã. Há também efeitos descritos como “tardios”, “distais” ou “prolongados” que são dependentes da regulação, promovida pela melatonina, de genes relógio em diversos tecidos que podem ser dependentes de outros genes (genes controlados pelos genes relógio) e que, portanto, caracterizam funcionalmente esses tecidos e podem se expressar a qualquer momento das 24 horas seguintes. Nesse sentido, a presença noturna da melatonina é capaz de modular funções centrais e periféricas durante todo o dia seguinte até que ocorra um novo episódio de sua secreção na noite seguinte (CIPOLLA-NETO; AMARAL, 2018).

Outro possível mecanismo de ação mediado por receptores decorre de sua capacidade de modular funções através de receptores nucleares da família retinóide (RZR e ROR). Essa interação induz aumento na produção de citocinas pró-inflamatórias e caracteriza uma importante função da melatonina na regulação da atividade de células do sistema imune (GUERRERO; POZO, 2000).

A melatonina também é capaz de desempenhar funções de maneira independente à interação com receptores (AMARAL et al., 2019; CIPOLLA-NETO et al., 2014), determinado por sua característica química anfifílica, que lhe permite difundir-se tanto em meio aquoso quanto lipídico e estar presente em qualquer compartimento do organismo. Um exemplo dessa ação não mediada por receptores é a sua capacidade antioxidante. Os carbonos 2 e 3 do anel pirrólico da molécula de melatonina, são conectados por dupla ligação, tornando-a potente neutralizador de espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio. Essa função antioxidante lhe confere um papel funcional importante nas mitocôndrias, pois é capaz de quelar diretamente radicais livres formados ao longo da respiração celular (AMARAL et al., 2019; REITER et al., 1999; TAN et al., 2002; TOMÁS-ZAPICO; COTO-MONTES, 2005). Além disso, tem a capacidade (agora por uma ação dependente de receptores) de regular a expressão de enzimas antioxidantes clássicas como a glutathiona peroxidase (GSH-Px) e superóxido dismutase (SOD) (REITER et al., 1999). A ação não mediada por receptores é considerada e decorre da interação molecular entre melatonina e enzimas do tipo quinona redutase 2 que, muitas vezes são mencionados como receptores MT3 (AMARAL et al., 2019).

Dentre a variedade de funções nas quais a melatonina pineal participa, destaca-se a regulação endócrina da reprodução (GOLDMAN, 2001); regulação do sistema cardiovascular,

mais precisamente da pressão arterial (MCKINLEY et al., 1990) e regulação do sistema imune (FRASCHINI et al., 1990). Ainda, como poderoso agente cronobiótico, a melatonina é responsável pela sincronização de diversos ritmos biológicos e capaz de controlar oscilações endógenas de parâmetros fisiológicos, tais como a secreção de hormônios, renovação celular, controle da temperatura do organismo, digestão, pressão arterial e frequência cardíaca (BRZEZINSKI, 1997; CIPOLLA-NETO; AMARAL, 2018); parâmetros comportamentais, como humor, desempenho cognitivo (ECKEL-MAHAN et al., 2008; GERSTNER et al., 2009) e estado de sono e vigília (ARMSTRONG, 1989); além de estar envolvida em processos anti-inflamatórios, por meio de suas propriedades antioxidantes e imunomoduladoras (KARASEK, 2007). Outra importante função, que será abordada com mais detalhes adiante, refere-se à sua participação no metabolismo energético (CIPOLLA-NETO et al., 2014; CIPOLLA-NETO; AMARAL, 2018).

1.1 Melatonina materna e plasticidade fenotípica

Durante o desenvolvimento intrauterino, fatores ambientais podem induzir alterações críticas no desenvolvimento do organismo e, portanto, no período pré-natal, insultos relacionados ao estresse, ingestão de álcool, fármacos, nutrição e exercícios físicos podem influenciar a estruturação, maturação e funcionamento dos sistemas fisiológicos (DRAKE; WALKER; SECKL, 2005; LAU; ROGERS, 2004; ROSENFELD; WELLER, 2012).

Especialmente no sistema reprodutor feminino, evidências demonstram capacidade de produção *per se* de melatonina por algumas estruturas que o compõe: oócitos (gametas femininos), ovários (gônadas femininas), células do *cumulus* (estruturas formadas ao longo do desenvolvimento folicular no ciclo ovariano) e placenta (órgão transitório de comunicação entre organismo materno e fetal). Em tais órgãos/estruturas é observada maior concentração de melatonina em relação à circulação sanguínea o que a confere relevante capacidade de, além de outras importantes ações, agir contra possíveis danos oxidativos durante a maturação dos oócitos e ovulação, momento em que há maior produção de radicais livres. Na placenta, durante a gestação, as células do trofoblasto (citotrofoblasto e sinciciotrofoblasto que se desenvolvem ao longo da implantação uterina), além de serem importantes fontes de melatonina local, também possuem receptores desta indolamina (MT1 e MT2) (CHUFFA et al., 2020; REITER et al., 2014).

A melatonina é uma das poucas substâncias capazes de cruzar a barreira placentária sem sofrer alterações estruturais e, neste sentido, desempenha importante papel na regulação de ritmos biológicos no feto e neonato, além de ser detectada no leite materno (KLEIN, 1972;

OKATANI et al., 1998; SCHENKER et al., 1998; VERMOUTH et al., 1995) e de exercer importante função na neuroproteção e neurodesenvolvimento (MOTTA-TEIXEIRA et al., 2018; WILKINSON; SHEPHERD; EUAN, 2016). Esses fatores, associados a capacidade de melatonina hormonal materna sinalizar ao feto em desenvolvimento o fotoperíodo externo, demonstram claramente a importância da melatonina materna, não apenas na sincronização dos ritmos do feto, mas também na preparação o organismo fetal para lidar, ao nascer, com ambiente externo, representados pelo dia e a noite e pela estação do ano.

Em humanos observou-se o mesmo ritmo de melatonina circulante materna no feto (KENNAWAY; GOBLE; STAMP, 1996; OKATANI et al., 1998; REITER et al., 2014) e, experimentalmente, após exposição materna ao claro constante, a abolição deste ritmo interferiu na expressão fetal de genes relógio, eventos estes revertidos pela reposição diária de melatonina materna (REITER et al., 2014; TORRES-FARFAN et al., 2006). Assim, é importante ressaltar que o feto e os recém nascidos, são exclusivamente dependentes da melatonina materna, visto que, sua síntese só ocorre semanas após o nascimento (BELLAVÍA et al., 2006; KENNAWAY; GOBLE; STAMP, 1996; OKATANI et al., 1998).

Em relação ao metabolismo energético, já foi demonstrado experimentalmente que, a ausência de melatonina, durante a gestação e lactação, determina nos descendentes, quando adultos, intolerância à glicose, principalmente em decorrência da resistência hepática à insulina e da secreção reduzida desse hormônio (FERREIRA et al., 2012a).

1.2 Insulina, metabolismo energético e melatonina

Nos últimos anos diversos trabalhos descreveram o importante papel da melatonina na atividade de tecidos metabolicamente ativos, como fígado e tecidos adiposos (branco e marrom), bem como na fisiopatologia do diabetes *mellitus* do tipo 2 (DM2) e da obesidade (BORGES-SILVA et al., 2005; GOSH et al., 2007; LIMA et al., 2017; NISHIDA et al., 2003; PICINATO et al., 2008; SERAPHIM et al., 1997; ZANQUETTA et al., 2003), o que a destaca como reguladora do metabolismo de carboidratos, por meio do controle da secreção de insulina (PICINATO et al., 2008) e de sua ação biológica (CIPOLLA-NETO et al., 2014).

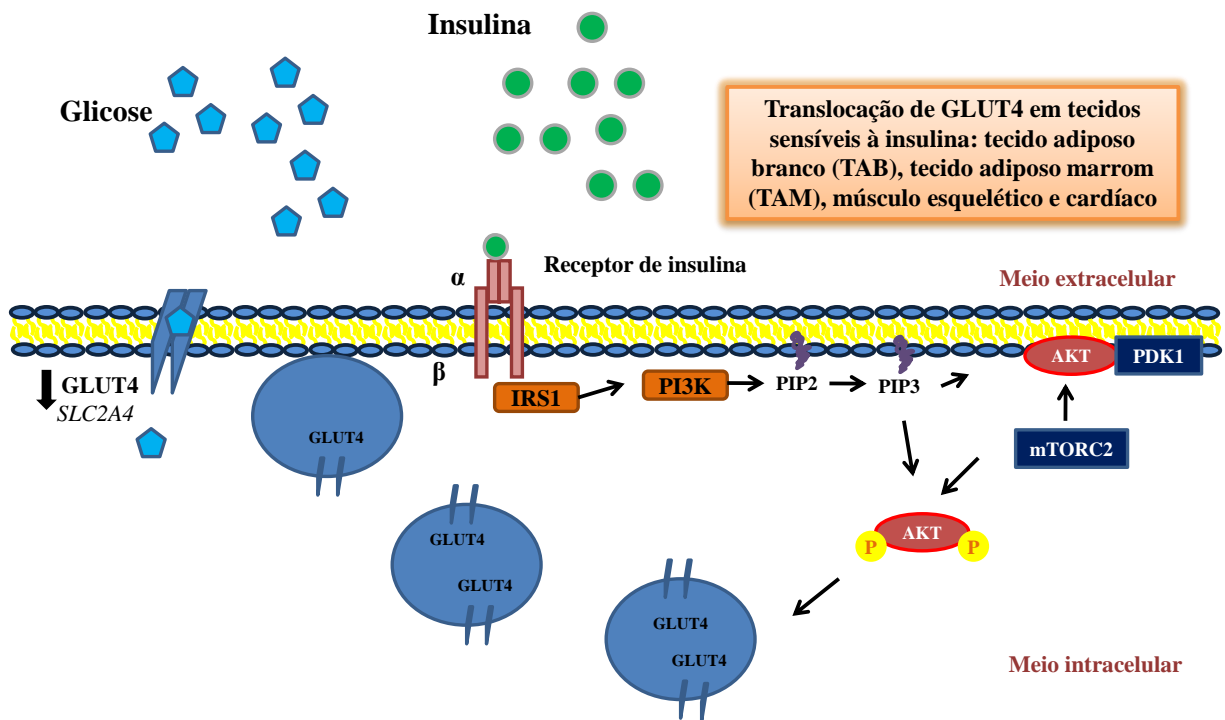
A insulina é um hormônio proteico sintetizado pelas células beta das ilhotas pancreáticas e estocado em vesículas secretórias até que haja estímulo para sua extrusão (DEENEY; PRENTKI; CORKEY, 2000). É composto de duas cadeias polipeptídicas (cadeia A e cadeia B), as quais são ligadas por pontes dissulfeto e, sua síntese, ocorre no retículo endoplasmático rugoso, posteriormente transportado para o complexo de Golgi, onde será empacotado na forma de grânulos secretores (GANONG, 2006).

Destes grânulos, a insulina é secretada para a circulação sanguínea, principalmente, por estímulo proveniente da metabolização de substratos energéticos, pelas células secretoras de insulina, tais como a glicose, que é seu principal secretagogo (HABER et al., 2001). Este estímulo é percebido pelo influxo de glicose na célula beta, através do transportador de glicose de isoforma 2 (GLUT2), (MUECKLER, 1994), com consequente fosforilação e metabolização da molécula de glicose, que promove aumento da relação ATP/ADP e que, por sua vez, induz aumento da probabilidade de fechamento dos canais para potássio sensíveis ao ATP (K_{ATP}) e, conseqüentemente, acúmulo intracelular deste íon o que resulta na despolarização da membrana celular. Esses eventos favorecem a abertura de canais para cálcio sensíveis à voltagem e aumento do influxo de cálcio que, aliado à metabolização de glicose, promove consecutivas fosforilações de proteínas, e excitose dos grânulos com insulina (CARVALHEIRA; ZECCHIN, 2002; HABER et al., 2001).

O receptor para insulina é uma glicoproteína constituída por duas subunidades, α e β , unidas por ligações dissulfeto. A subunidade α é localizada externamente à membrana celular e possui o sítio de ligação para o hormônio. A subunidade β cruza a membrana e possui atividade tirosina quinase intrínseca (no citosol), a qual permite que estas subunidades se autofosforilem em tirosina (BJÖRNHOLM; ZIERATH, 2005; KAHN, 1985; KASUGA; KARLSSON; KAHN, 1982).

Quando fosforilado, o receptor para insulina permitirá tanto a ligação quanto a fosforilação de resíduos de tirosina de vários substratos proteicos intracelulares, chamados de IRS (*insulin receptor substrate*), por exemplo, o IRS1 (CARVALHEIRA; ZECCHIN, 2002). Na sequência, há ativação da fosfatidilinositol-3-quinase (PI3K) (BIDDINGER; KAHN, 2006; CARVALHEIRA; ZECCHIN, 2002; GOSH et al., 2007; KANZAKI, 2006) e estímulo para sua mobilização à membrana plasmática (OLSON, 2012), o que favorece sua ação em substratos lipídicos, em particular, o PIP2 que origina o fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PIP3) (CHANG; CHIANG; SALTIEL, 2004; KANZAKI, 2006; OLSON, 2012). O PIP3 pode recrutar proteínas como a AKT/PKB (*protein kinase B*), pela interação com domínios específicos (domínio PH). A AKT deverá ser fosforilada pela quinase dependente de fosfoinosítídeos 1 (PDK1) e pelo complexo mTORC2 (OLSON, 2012; TOKER; MARMIROLI, 2014) e, a partir daí, vários eventos podem ocorrer, em destaque, a translocação das vesículas citoplasmáticas contendo transportadores de glicose de isoforma 4 (GLUT4) (**Figura 3**) (CHANG; CHIANG; SALTIEL, 2004; OLSON, 2012), altamente expresso nos tecidos adiposos branco (TAB) e marrom (TAM) e nos músculos cardíaco e esquelético.

Figura 3- Via de sinalização intracelular da insulina em tecidos responsivos.



Na figura acima é possível observar que a interação entre o hormônio e seu receptor [expresso em tecidos sensíveis a sua ação, tais como os adiposos branco (TAB) e marrom (TAM), além de músculo esquelético e cardíaco], desencadeia uma série de fosforilações intracelulares que culminam em ativar a AKT, por meio da fosforilação, a qual estimula a translocação de GLUT4 para a membrana plasmática e posterior captação de glicose pela célula e, portanto, seu *clearance* plasmático (Elaborado pelo próprio autor).

A translocação de GLUT4, em resposta ao estímulo insulínico (CARVALHEIRA; ZECCHIN, 2002; JENNI et al., 2014; ROSENBAUM; LEIBEL, 2014; THORENS; CHARRON; LODISH, 1990; TOZZO; GNUDI; KAHN, 1997; WARDZALA; CUSHMAN; SALANS, 1978), induz o aumento do número destes transportadores de glicose na membrana celular e, conseqüentemente, a captação da glicose (BRADY; PESSIN; SALTIEL, 1999; MACHADO; SHIMIZU; SAITO, 1994; NOV et al., 2013). Contrariamente, quando decaem os níveis de insulina, há internalização desses transportadores, e redução do influxo de glicose (REA; JAMES, 1997).

Caso estas vias não funcionem de forma adequada, caracteriza-se a resistência à insulina que é definida como uma resposta biológica menor do que a esperada para determinada dose de insulina (HOTAMISLIGIL; SHARGILL; SPIEGELMAN, 1993). Existem evidências de que a resistência à insulina, em longo prazo, está relacionada com a redução no conteúdo de GLUT4 e na sua expressão (cuja codificação se dá pelo gene *Slc2a4*) (BELPIEDE, 2015; CÔRREA-GIANNELA; MACHADO, 2013). Nesse sentido, por mais que a insulina interaja com seu receptor e desencadeie sua resposta intracelular, conforme

descrito anteriormente, se houver redução de *Slc2a4*/GLUT4, a densidade de transportadores na membrana celular será reduzida e a captação de glicose pelos tecidos não será eficiente, o que resultará em hiperglicemia e hiperinsulinemia compensatória (BELPIEDE, 2015).

Estudos demonstraram que a ausência experimental da melatonina (decorrente da pinealectomia) pôde induzir resistência à insulina e intolerância à glicose, devido tanto a redução da responsividade à insulina (ANHÊ et al., 2004; LIMA et al., 1998) quanto à redução na expressão de *SLC2A4* e conteúdo proteico de GLUT4 (GOSH et al., 2007; SERAPHIM et al., 1997; ZANQUETTA et al., 2003).

Há evidências de que a melatonina, *per se*, ao interagir com receptores MT1, seja capaz de fosforilar em tirosina o receptor da insulina e desencadear subsequentes fosforilações intracelulares associadas aos efeitos biológicos da insulina (ANHÊ et al., 2004; PICINATO et al., 2008).

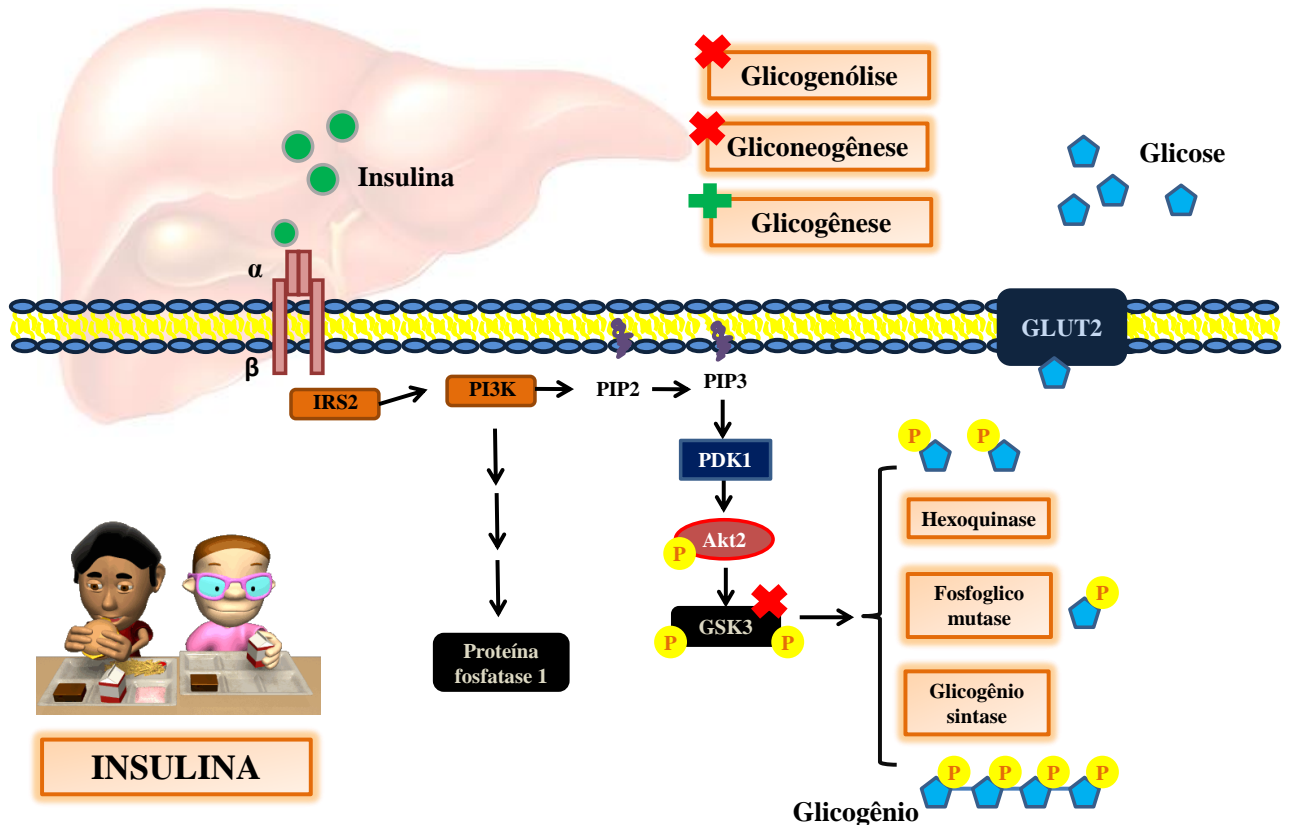
1.3 Tecido hepático, metabolismo energético e melatonina

O tecido hepático exerce diversas funções metabólicas para garantir a homeostase glicêmica (ADEVA-ANDANY et al., 2016; MADRIGAL-MATUTE; CUERVO, 2016): além de utilizar glicose, o fígado é capaz de sintetizá-la e liberá-la para a circulação sanguínea (GUILLEMAIN et al., 2000). A glicose absorvida da alimentação acessa o hepatócito por meio do transportador GLUT2, codificado pelo gene *Slc2a2*, e pode seguir diferentes vias metabólicas que se caracterizam por processos de síntese ou de degradação (oxidação). Dentre esses processos pode-se destacar a glicólise que representa uma via de degradação de glicose para produção imediata de energia, a glicogênese (síntese de glicogênio) e lipogênese (síntese de lipídeos) como exemplos de vias de síntese e a glicogenólise (degradação de glicogênio) que caracteriza outra importante via oxidativa (ADEVA-ANDANY et al., 2016; IYNEDJIAN et al., 1995; PERRY et al., 2014).

Uma vez que a insulina interage com seu receptor específico na célula hepática, promove uma via de sinalização intracelular semelhante a discutida anteriormente para translocação de GLUT4: ativa-se IRS2 que induzirá ativação de PDK1 e fosforilação de AKT2 que, por sua vez, promove a fosforilação da GSK3 (*glycogen synthase kinase-3*). A GSK3 fosforilada e, portanto, inativa, permite que outras enzimas importantes para a via sejam ativadas: a hexoquinase, por exemplo, incorpora grupo fosfato no carbono 6 das moléculas de glicose que acessaram o citoplasma celular através do GLUT2; a fosfoglicomutase troca o fosfato do carbono 6 para o carbono 1 e a glicogênio sintase que, por fim, promove a união das moléculas de glicose-1-fosfato para formação da molécula de

glicogênio (**Figura 4**). Apesar de a insulina ser de extrema importância para ativação de enzimas responsáveis pela síntese de glicogênio, a presença de glicose também é imprescindível para inibir a enzima glicogênio fosforilase, que participa do processo de glicogenólise (**Figura 5**) (PERRY et al., 2014).

Figura 4- Glicogênese ativada em hepatócitos.

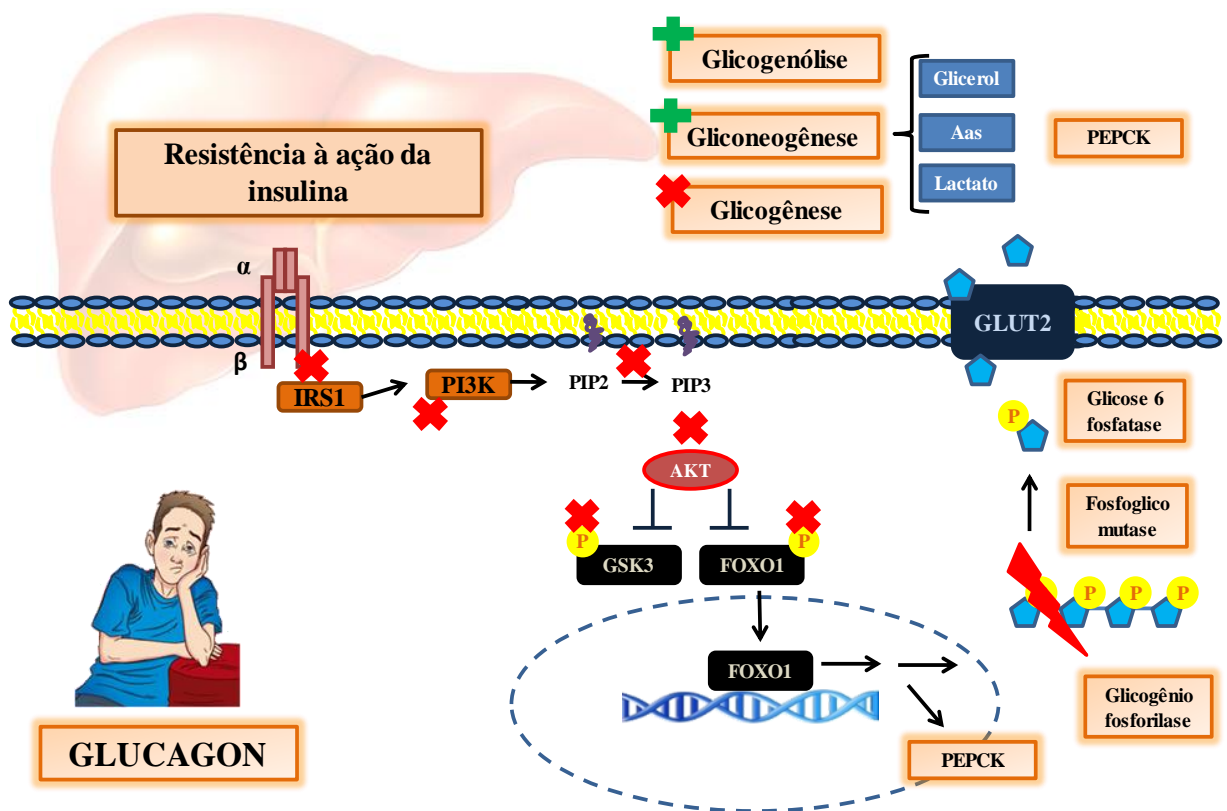


A presença da insulina na circulação sanguínea em período pós prandial promove maior atividade de proteínas e enzimas responsáveis por vias de síntese. A imagem representa a via da glicogênese que também ocorre em tecido muscular esquelético: Após captação de glicose pelo GLUT2, a maquinaria intracelular/molecular proporciona síntese de glicogênio como reserva energética, a partir da fosforilação da glicose em seu carbono 6 (por ação da hexoquinase) seguida de modificação do grupo fosfato pela enzima fosfoglicomutase e, por último, união das moléculas de glicose fosforiladas em glicogênio, pela ação da glicogênio sintase (Elaborado pelo próprio autor).

Outra via metabólica capaz de ser ativada no fígado relaciona-se à conversão de moléculas não glicídicas em glicose, a gliconeogênese (CHUNG et al., 2015; NELSON; COX, 2014; TAPPY; JÉQUIER; SCHNEITER, 2000) que envolve ação da enzima-chave PEPCK (*phosphoenolpyruvate carboxykinase*), codificada pelo gene *Pck1*. A insulina é o principal hormônio inibidor da gliconeogênese, pois modula a expressão de *Pck1*: em uma situação de resistência à insulina ou em situações de privação alimentar, a PEPCK torna-se ativa e permite a produção hepática de glicose à partir de substratos provenientes de

moléculas lipídicas e proteicas, o que pode contribuir para hiperglicemia (MICHAEL et al., 2000; NELSON; COX, 2014). Nessas condições a atividade de AKT2 está diminuída o que facilita a translocação de FOXO1 (*forkhead box protein O1*) para o núcleo e aumento da expressão de proteínas relacionadas a gliconeogênese, como a PEPCCK, além da via de síntese hepática de glicose à partir de enzimas como a G6Pase (*glucose-6-phosphatase*) e a glicogênio fosforilase que torna-se ativa na ausência de glicose (**Figura 5**) (PERRY et al., 2014).

Figura 5- Glicogenólise e gliconeogênese ativada em hepatócitos.



Em situações de privação alimentar ou de resistência à ação da insulina é possível que vias catabólicas sejam ativadas no tecido hepático: a glicogenólise, que é desencadeado, principalmente pela ausência de insulina (durante a privação alimentar) ou, ainda, pela resistência à sua ação, o que reduz a fosforilação de determinadas proteínas e enzimas da via de sinalização intracelular o que facilita a translocação de FOXO1 para o núcleo, cujo principal papel é ativar enzimas como PEPCCK (responsável pela gliconeogênese), além da glicogênio fosforilase e G6Pase (responsáveis pela degradação hepática de glicogênio) (Elaborado pelo próprio autor).

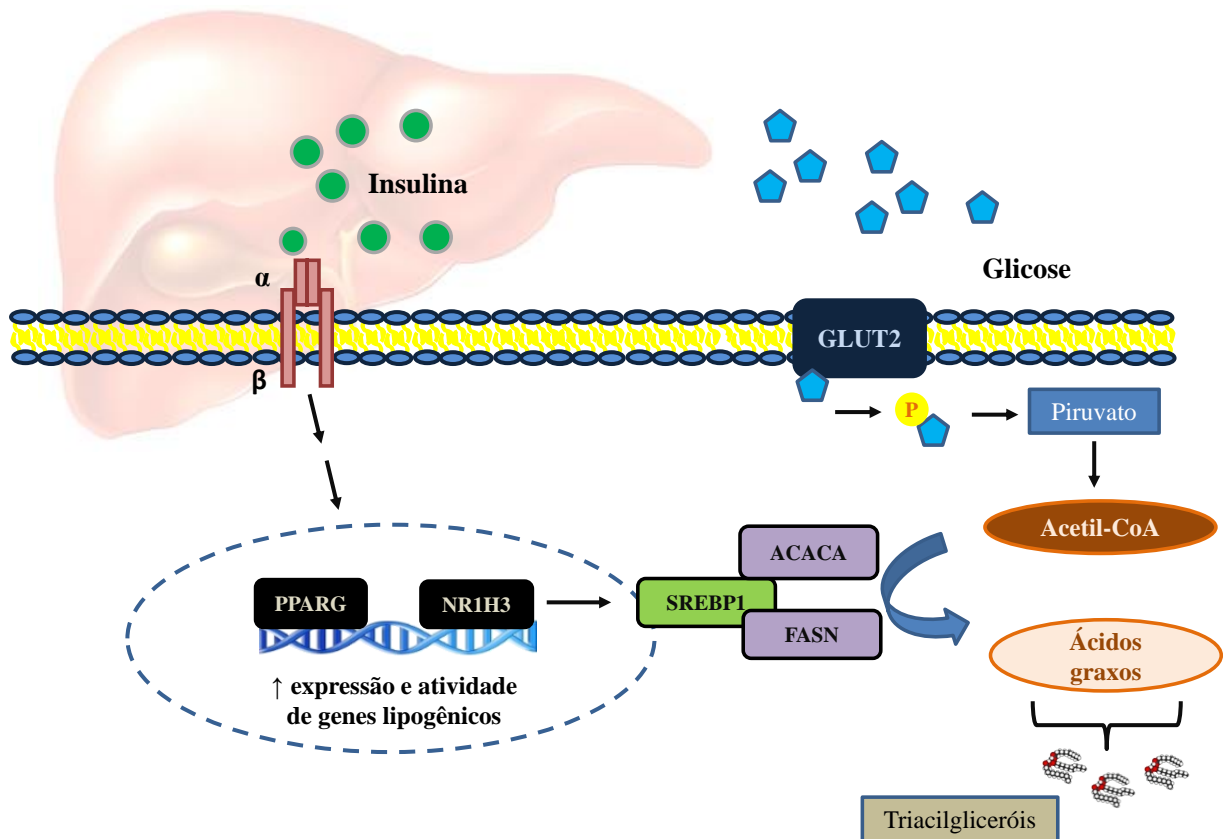
A capacidade hepática em estocar carboidratos após sua captação é limitada e, quando excedida, a glicose adicional é convertida inicialmente a ácidos graxos, os quais são esterificados e originam triacilgliceróis e são secretados na forma de lipoproteínas de muito baixa densidade (*very low density lipoprotein*- VLDL). Essa produção se dá pelo aumento do influxo de piruvato no interior da mitocôndria, onde serão convertidos a acetil-CoA; moléculas de acetil-CoA retornarão ao citoplasma na forma de citrato estimulado por fatores

nutricionais e hormonais. A insulina, presente na circulação sanguínea em período pós-prandial, interage com receptores específicos e promove uma cascata de sinalização intracelular responsável pela ativação de enzimas específicas que, por sua vez, recrutarão fatores transcricionais reguladores de genes lipogênicos (DENTIN; GIRARD; POSTIC, 2005).

Dentre os principais fatores transcricionais envolvidos nesse processo pode-se destacar o LXR (*liver X receptors*, codificado pelo gene *NR1H3*) que deverá interagir com regiões promotoras de genes lipogênicos, tais como SREBPs (*sterol regulatory element-binding protein*) que, por sua vez, ativará ACC (*acetyl-CoA carboxylase*, codificado pelo gene *ACACA*) e FAS (*fatty acid synthase*, codificado pelo gene *FASN*) considerados enzimas-chave para esse processo (CARVALHEIRA et al, 2002; WANG et al, 2015; DRĂGOI et al, 2019) e o PPARG (*peroxisome proliferator activated receptor gamma*) que regula a expressão de genes associados ao metabolismo de lipídios e de lipoproteínas em diversos tecidos, tais como no fígado (GAO et al., 2013). A lipogênese é ativada e a formação de ácidos graxos ocorre a partir de moléculas de acetil-CoA (que pode ser proveniente do metabolismo de carboidratos ou de outros substratos) no citosol dos hepatócitos, o que propicia e caracteriza o desenvolvimento de um fígado gorduroso (**Figura 6**) (DRĂGOI, 2019; MCDEVITT et al., 2001).

Ao considerar a homeostase glicêmica, evidências científicas apresentaram efeitos positivos da administração de melatonina neste processo: além de ser importante no controle da tolerância à glicose, sensibilidade à insulina e aumento de massa adiposa, parece modular a gliconeogênese hepática; efeitos estes contrariamente apresentados após pinealectomia (DIAZ; BLAZQUEZ, 1986). Logo, a ausência de melatonina em animais, se correlaciona à características diabetogênicas por meio da intolerância à glicose e resistência à insulina (LIMA et al., 1998). Alterações metabólicas associadas à redução dos níveis plasmáticos de melatonina, como ocorrem no envelhecimento, trabalho noturno e exposição à luz durante a noite, podem ser melhoradas com sua reposição (AMARAL et al., 2019; CIPOLLA-NETO et al., 2014).

Figura 6- Lipogênese ativada em hepatócitos.



A insulina ou mesmo um estado de resistência à sua ação e a presença de inflamação subclínica podem ativar a expressão de genes lipogênicos, tais como como PPARG, NR1H3, SREBP, ACACA e FASN. O aumento na captação de glicose pelo tecido hepático facilita a formação do substrato acetil-CoA para a lipogênese e esses dois eventos em conjunto proporcionarão a formação de moléculas de triacilgliceróis e maior depósito lipídico nesse tecido (Elaborado pelo próprio autor).

1.3 Tecidos adiposos (branco e marrom), metabolismo energético e melatonina

Há tempos o TAB foi conhecido com sua função de armazenamento de energia, sob a forma de moléculas de triacilgliceróis, entretanto, à partir de 1994, com a descoberta da leptina, o tecido adiposo passou a ser visto como um importante órgão endócrino (ZHANG et al., 1994). Atualmente é considerado com significativa função na homeostase energética (PARK, 2014). As células que compõem o TAB interagem entre si por meio da secreção de adipocinas, as quais atuam de maneira autócrina, parácrina e endócrina (ARMSTRONG, 1989; LIMA, F. B.; CURI, 2012; ROSENWALD; WOLFRUM, 2014).

A descoberta da leptina como adipocina foi um importante marco para que o TAB fosse considerado como um importante órgão endócrino e com fundamental importância na homeostase energética. Fisiologicamente a leptina quando presente em maior quantidade na circulação sanguínea sinaliza ao organismo maior volume de massa adiposa branca e induz efeitos anorexigênicos em neurônios hipotalâmicos. Além da leptina, a concentração de outras

adipocinas pode estar elevada quando há maior volume de massa adiposa branca, o que aumenta o risco para desenvolvimento de diversas desordens metabólicas (TRAN; KAHN, 2010). As evidências demonstram correlação positiva entre um maior volume de TAB e a atividade de adipocinas pró-inflamatórias (HOTAMISLIGIL et al., 1995), em adição ao aumento de MCP1 (*monocyte chemoattractant protein 1*) que promove diferenciação dos monócitos em macrófagos ativos (XU et al., 2015). Dentre essas adipocinas destaca-se elevada expressão de TNFA (*tumor necrosis factor alpha*) (HOTAMISLIGIL; SHARGILL; SPIEGELMAN, 1993), IL1B (*interleukin 1beta*) (KOIVISTO; PELKONEN; CANTELL, 1989; NELSON; WALSH; SHEEHAN, 1994) e IL6 (*interleukin 6*) (PICKUP et al., 1997; YUDKIN et al., 1999).

Nesse sentido, uma condição inflamatória crônica originária do TAB e provocada pela maior secreção de adipocinas pró-inflamatórias vem sendo associada à co-existência de doenças, tais como o DM2, doença metabólica caracterizada pelo aumento de glicose sanguínea induzido por anormalidade na secreção e/ou na ação da insulina, bem como redução na expressão de *Slc2a4* e conteúdo de GLUT4) (BELPIEDE, 2015; CÔRREA-GIANNELA; MACHADO, 2013). O DM2 parece ser precedido de resistência à insulina em três importantes territórios metabólicos: fígado e tecidos adiposos branco e marrom, que podem ser afetados por diversos outros eventos a serem discutidos ao longo do trabalho.

O tecido adiposo marrom (TAM), apesar de não ter uma função diretamente relacionada com reservatório de energia, possui importância na manutenção do gasto energético, visto que sua principal característica é a participação na regulação do dispêndio energético, principalmente por meio do controle da temperatura corporal (MÖSSENBOCK et al., 2014), pela maior ou menor termogênese, a qual oxida um substrato e dissipa a energia gerada sob a forma de calor (CANNON; NEDERGAARD, 2004; MÖSSENBOCK et al., 2014). A função termogênica deste tecido decorre da presença da proteína desacopladora 1 (*uncoupling protein 1*- UCP1), expressa na membrana interna das mitocôndrias de seus adipócitos (BAE et al., 2014).

A presença de TAM em humanos adultos não era tão bem definida, mas nos últimos anos, vêm sendo investigada e relacionada ao gasto energético, controle glicêmico e sensibilidade à insulina (MÖSSENBOCK et al., 2014). Nos mamíferos, esse tecido é innervado por fibras simpáticas e, a liberação de noradrenalina (NA), induz aumento da atividade termogênica pela produção de calor, além do aumento na capacidade termogênica pela adipogênese marrom, biogênese mitocondrial e síntese de proteínas termogênicas, tais como a UCP1 (BAE et al., 2014; CANNON; NEDERGAARD, 2004).

O TAM também pode ser influenciado pela inflamação proveniente do TAB, o que parece induzir menor expressão de RNA mensageiro (RNAm) para UCP1. Em consequência desse evento há redução na atividade mitocondrial local, o que dificulta o dispêndio de energia (BAE et al., 2014). Além disso, existem evidências de que o consumo lipídico elevado (gordura saturada) pode levar à resistência à insulina no TAM (YIFU QIU et al., 2014).

A termorregulação designa um mecanismo de controle da temperatura corporal, mantendo-a em níveis aproximadamente constante em diferentes condições ambientais, através de um balanço entre produção e dissipação de calor do corpo para o ambiente, com a utilização de processos fisiológicos e comportamentais. As trocas de calor com o ambiente em animais endotérmicos (por exemplo, os roedores), em alguns intervalos de temperatura ambiente, os permite gastar menos energia para termorregulação, o que denomina-se de intervalo de termoneutralidade. Um ambiente com temperaturas abaixo deste intervalo é conhecido como subneutro ou frio e requer elevação da taxa da produção de calor metabólico, por processos de termogênese, e redução das perdas. Já um ambiente com temperaturas acima do intervalo termoneutro é denominado de supraneutro ou quente e caracterizado por elevar a dissipação de calor e reduzir a termogênese (GORDON, 1990).

Portanto, animais endotérmicos são capazes de manter a temperatura interna, dentro de limites estreitos, independentemente das variações de temperatura externa (BLIGH; JOHNSON, 1973) o que depende da integração entre informação térmica interna e ambiental pelo sistema nervoso central (SNC) ativadora de uma resposta termorregulatória apropriada (BOULANT, 1998). Em ratos, há quatro componentes principais do sistema termorregulatório: (1) os receptores térmicos (sensores); (2) os neurônios integrativos e de controle do SNC (comparador); (3) os mecanismos efetores responsáveis pela produção, conservação e dissipação de calor (controlador); (4) e a temperatura da pele da cauda (sistema controlado pela constrição ou dilatação vascular) (GORDON, 1990).

Neste sentido, a depender da temperatura em que são expostos, animais endotérmicos necessitam reduzir ou aumentar as trocas de calor com o ambiente, por meio de estruturas que se caracterizam por elevada razão superfície/volume, ausência de pêlos, densa rede de vasos sanguíneos e presença de anastomoses arteriovenosas (comunicação direta entre arteríolas e vênulas). Estes locais são de extrema importância para trocas de calor, ou seja, possuem elevada eficiência termorregulatória e são chamados de janelas térmicas (ANDRADE, 2015). A cauda dos roedores é um importante exemplo de janela térmica, haja visto que representa 7% da área de superfície corporal total, é um tecido altamente vascularizado, não apresenta

pêlos e permite rápida modificação do fluxo sanguíneo durante situações de estresse térmico (ROMANOVSKY; IVANOV; SHIMANSKY, 2002). A temperatura interna é, então, o resultado entre a produção de calor metabólico e a sua dissipação mantida por um conjunto de ajustes neurais, hormonais e comportamentais e que caracteriza a atividade termoeffetora (MAICKEL et al., 1991)

Em ratos, os mecanismos autonômicos responsáveis pela dissipação de calor são o fluxo sanguíneo cutâneo e a perda evaporativa de calor (NAGASHIMA et al., 2000), enquanto que os responsáveis pela produção de calor são a termogênese associada ao tremor e a termogênese não associada ao tremor, sendo o último dependente da atividade fisiológica, principalmente, de adipócitos marrons.

Conforme brevemente antecipado, durante muito tempo acreditou-se que o TAM, em humanos, estivesse presente apenas em recém-nascidos, responsável pela termogênese sem tremor e que, ao longo do crescimento, sofresse involução e tornar-se-ia inexistente e/ou irrelevante na idade adulta (LEAN et al., 1986). A presença de TAM ativo em humanos adultos e sua importância fisiológica foi primeiramente sugerida em 2007 (NEDERGAARD; BENGTTSSON; CANNON, 2007) e finalmente reconhecida em 2009 (CYPESS et al., 2009; SAITO et al., 2009; VAN MARKEN LICHTENBELT et al., 2009).

Atualmente, tanto a presença do TAM em humanos adultos, quanto sua capacidade termogênica nestes indivíduos, são consenso na literatura científica com estimativas de que este tecido seja responsável por um gasto calórico equivalente a 4.1 Kg por ano nesta fase da vida (VIRTANEN, 2009). A atividade do TAM parece reduzir com a idade (YONESHIRO et al., 2011), é inversamente proporcional ao índice de massa corporal (IMC) e à adiposidade visceral (CYPESS et al., 2009; WANG et al., 2015) e, ainda, parece ser menor em homens do que em mulheres (COHADE; MOURTZIKOS; WAHL, 2003; CYPESS et al., 2009; WANG et al., 2015).

O TAM é o único órgão encontrado com exclusividade em mamíferos. Uma de suas funções, a produção de calor, assegura a capacidade adaptativa desses seres vivos às mudanças ambientais de temperatura, especialmente no frio (JANSKÝ, 1973). A preparação para reserva energética e alterações metabólicas em antecedência ao ambiente hostil (baixas temperaturas e disponibilidade inadequada de alimentos) apresentam efeitos benéficos em termos de sobrevivência. Neste sentido, hipertrofiar, recrutar e ativar o TAM durante o inverno é um processo natural, capaz de aumentar a probabilidade de sobrevivência da espécie (TAN et al., 2011).

Conforme mencionado anteriormente o TAM também possui importante função na homeostase do balanço energético sinalizado pelo aumento da produção de calor e, conseqüentemente, maior gasto calórico, por exemplo, em situações de hiperfagia (STOCK, 1979). Neste caso, a função da termogênese induzida pela dieta é de transformar a energia química consumida a partir dos alimentos, em calor, contrariamente à função do TAB, de estocá-la, principalmente, sob a forma de gordura.

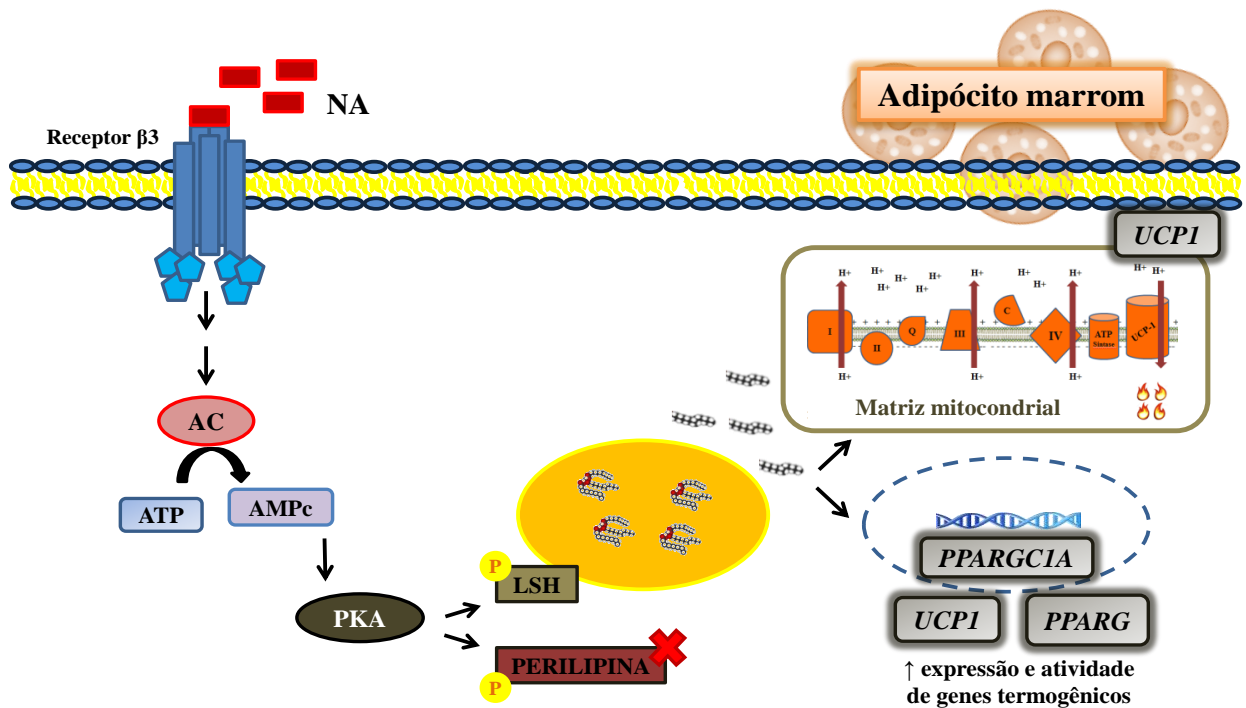
É importante destacar que o TAM é um tecido altamente vascularizado devido à necessidade de aporte adequado de nutrientes e oxigênio, bem como para permitir o processo de dissipação de calor. Neste tecido há gotículas que representam limitados depósitos de triacilglicerol, os quais são utilizados para um rápido suprimento energético e, sua inervação simpática, é necessária para rápida ativação. Para manutenção de termogênese prolongada, o TAM deve receber substratos (ácidos graxos e glicose) a partir da circulação (CANNON; NEDERGAARD, 2004).

Adipócitos marrons caracteristicamente expressam UCP1, proteína desacopladora responsável pelo seqüestro de elétrons na cadeia respiratória que, ao invés de serem incorporados na forma de energia química em moléculas de ATP, serão dissipados sob a forma de calor (GOLOZOUBOVA, VALERIA; HOHTOLA, E.; MATTHIAS, A.; JACOBSSON, A.; CANNON, B.; NEDERGAARD, 2001). Portanto, o TAM é metabolicamente ativo e sua função termogênica é capaz de deslocar o balanço energético no sentido do gasto calórico e retardar o ganho de peso corporal e, em alguns casos, induzir a perda. Acredita-se que a UCP1 seja a única proteína responsável por mediar a termogênese sem tremor: um trabalho publicado por GOLOZOUBOVA e colaboradores, em 2001, mostrou que camundongos deficientes em UCP1 tornaram-se incapazes de ativar o TAM quando expostos a baixas temperaturas e mesmo quando em condições de termoneutralidade, além de obesos, o que também demonstra importante função desta proteína na regulação do dispêndio energético (FELDMANN et al., 2009).

O recrutamento do TAM é mediado pela NA, o neurotransmissor do sistema nervoso simpático (SNS), que atua em receptores de membrana noradrenérgicos β_3 e α_1 . Os receptores β_3 encontram-se acoplados à proteína Gs; o estímulo simpático nestes receptores ativa a AC o que induz aumento intracelular de AMPc nos adipócitos marrons. Como resultado, a PKA formada estimula a lipase sensível à hormônio, uma importante enzima da lipólise, responsável pela liberação de ácidos graxos livres (AGLs) a partir dos triacilgliceróis. Esses AGLs, além de serem substratos para a β -oxidação e, portanto, importantes para geração de calor (via aumento da atividade da UCP1) na mitocôndria das células do TAM,

também aumentam a atividade de PGC1A (*peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 alpha*, codificado pelo gene *PPARGC1A*) e PPARG (COSTFORD, S.; GOWING, A.; HARPER, 2001; KALINOVICH et al., 2017; ROMAN et al., 2015; SEALE; KAJIMURA; SPIEGELMAN, 2009) (**Figura 7**).

Figura 7- Ativação de adipócitos marrons via receptor $\beta 3$.

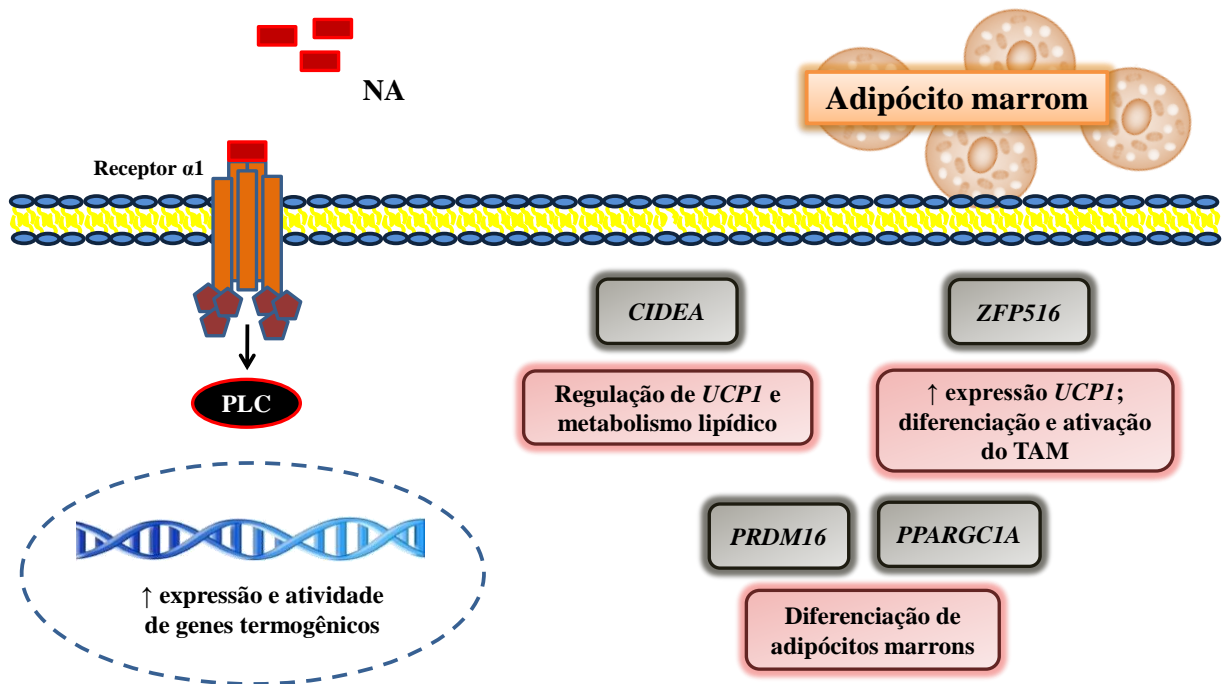


Mediado NA, que ao se ligar a receptores $\beta 3$, acoplado à proteína Gs, ativa a adenilato ciclase (AC) que converte moléculas de ATP em AMPc e que induz seu aumento intracelular e ativa a proteína quinase A (PKA) que, por sua vez, fosforila a lipase sensível à hormônio (LSH) ativando-a e a perilipina desativando-a, com intuito de estimular a via lipolítica. A LSH é responsável pela liberação de ácidos graxos livres (AGL) a partir dos triacilgliceróis que, além de estimularem fatores transcricionais, como o *PPARGC1A* e *PPARG*, serão direcionados para fosforilação oxidativa, na matriz mitocondrial à partir da atividade de UCP1 (Elaborado pelo próprio autor).

Já os receptores adrenérgicos do tipo $\alpha 1$, também encontram-se na membrana de adipócitos marrons, acoplados à proteína Gq e, quando estimulados, ativam a PLC que, em última instância, é responsável pela ativação do aumento da expressão dos genes típicos do TAM (CANNON; NEDERGAARD, 2004; MOHELL, 1984; SELL; DESHAIES; RICHARD, 2004), como *PPARGC1A* e *PRDM16* (*PR domain containing 16*), genes que codificam fatores de transcrição envolvidos no processo de diferenciação de adipócitos marrons (SEALE et al., 2008); *ZFP516* (*zinc-finger protein 516*), cuja função principal é aumentar a ativação transcricional da UCP1, além de também promover diferenciação e ativação do TAM (SEALE, 2015) e *CIDEA* (*cell death activator*), gene predominante expresso nas células de

gordura marrom, onde regula a atividade da UCP1 e do metabolismo lipídico (SEALE; KAJIMURA; SPIEGELMAN, 2009) (**Figura 8**).

Figura 8- Ativação de adipócitos marrons via receptor $\alpha 1$.



Mediado pela noradrenalina (NA), que ao se ligar a receptores $\alpha 1$ ativa a fosfolipase C (PLC) o que induz aumento na expressão e na atividade de genes termogênicos, tais como *CIDEA*, *ZFP516*, *PRDM16* e *PPARGC1A* (Elaborado pelo próprio autor).

Recentemente, evidências tanto em animais quanto em humanos, demonstraram que adipócitos brancos, de território subcutâneo, podem apresentar fenótipo e características funcionais de adipócitos marrons (BOSTRÖM et al., 2012). Estas células são denominadas de adipócitos beges (WU et al., 2012) e, assim como os adipócitos marrons, apresentam morfologia multilocular, são ricas em mitocôndrias, expressam UCP1 e regulam outras proteínas e fatores relacionados com a termogênese (KAJIMURA; SEALE; SPIEGELMAN, 2010). Esta transformação celular recebe o nome de *browning* ou escurecimento e ocorre, principalmente, em resposta ao frio e ao estímulo simpático.

Evidências mostram a importante influência da melatonina na fisiologia do TAM, principalmente, em relação ao aumento de sua atividade metabólica, o que parece ocorrer de maneira central ou periférica. A atividade do TAM parece ser centralmente regulada por neurônios de NSQ e do PVH, onde há receptores de melatonina MT1 e MT2 (TAN et al., 2011; WU et al., 2006) e periféricamente por ação em MT1 e MT2 de adipócitos marrons (AARSETH; NORDØY; STOKKAN, 2001; MÅRTENSSON; ANDERSSON; BERG, 1996).

No NSQ a melatonina é capaz de exacerbar o estímulo simpático, induzir o *turnover* de NA e de aumentar a expressão de genes para *UCPI*, *PPARG* e *PPARGCIA* (BAMSHAD; SONG; BARTNESS, 2017; BARTNESS; DEMAS; SONG, 2002).

Na mitocôndria de adipócitos marrons também parece haver interação da melatonina. O que se acredita é que, sua função antioxidante seja capaz de proteger essa organela de danos oxidativos e, conseqüentemente, otimizar a função termogênica mitocondrial do TAM (LÓPEZ et al., 2009).

7. CONCLUSÃO

O presente trabalho contribuiu e contribuirá para elucidar a magnitude da capacidade de os eventos ambientais induzirem modulações metabólicas, moleculares e funcionais. A ausência de melatonina materna, indiretamente, pode ter influenciado na síntese e secreção da melatonina dos próprios descendentes, e ser, então, um importante gatilho para cronorrupturas nesses animais, o que contempla um ciclo entre metabolismo e cronorruptura e exacerba a relação entre estes fatores.

O desenho experimental proposto é extremamente inovador, visto que não existem evidências na literatura sob as mesmas circunstâncias, e, portanto, servirá como iniciador para novos projetos; possibilitará o detalhamento de possíveis regulações, bem como a descrição circadiana dos parâmetros propostos; a investigação da expressão de genes relógio e sua correlação com a ausência de melatonina materna durante a gestação e lactação; a ritimicidade dos marcadores dos tecidos metabolicamente ativos, bem como os parâmetros funcionais analisados.

Foi possível concluir que o insulto provocado pela ausência materna de melatonina durante a gestação e lactação ou ainda, sua reposição terapêutica durante esses períodos de elevada susceptibilidade, influenciaram em diferentes magnitudes a maneira na qual parâmetros metabólicos e moleculares se comportaram e se correlacionaram às características funcionais.

A ausência de melatonina materna provocou aumento de ganho de peso corporal dos filhotes enquanto os mesmos foram amamentados e isso se estendeu até 7 dias após o desmame. O fato de os filhotes de mães pinealectomizadas com reposição terapêutica de melatonina apresentarem peso corporal semelhante aos filhotes de fêmeas controles (tanto no desmame quanto após 7 dias do desmame) e menor do que os filhotes de mães sem reposição terapêutica, apontam para o papel da melatonina materna na homeostase ponderal dos filhotes nessa fase de vida. Após essa fase, sob livre demanda alimentar, a ausência de melatonina materna parece não provocar alteração no peso corporal ao longo do tratamento (12 semanas), independentemente do tipo de ração consumida.

Considerando o fato de que ratos iniciam sua síntese de melatonina à partir da 4ª semana de vida, a melatonina é um importante regulador ponderal dos filhotes quando a única fonte de melatonina é de fonte materna, transferida por meio do leite (na amamentação), mas que, a partir do momento em que essa produção se torna autônoma e os filhotes são capazes de sintetizar e secretar sua própria melatonina, o controle ponderal é reajustado. Neste sentido é possível que a melatonina materna não influencie na programação ponderal dos

descendentes.

Por outro lado, ao considerar a homeostase glicêmica, a sensibilidade à insulina dos descendentes parece associar-se a uma programação intrauterina e/ou neonatal dependente da melatonina. Apesar de a sensibilidade à insulina ter sido menor nos filhotes de mães pinealectomizadas, a tolerância à glicose não se modificou, provavelmente devido à hiperinsulinemia, apesar de não medida, o que pode indicar que a capacidade pancreática de produção e de secreção de insulina ainda não tenha sido afetada pela ausência de melatonina materna. Ainda, a ineficiente homeostase glicêmica presente nesses animais podem inferir na síntese e secreção de sua própria melatonina pineal.

A ausência materna da melatonina parece não influenciar na expressão de genes lipogênicos e de transportadores de glicose do tipo 2 no tecido hepático e, também, não influenciou a expressão de citocinas pró-inflamatórias no tecido adiposo branco perigonadal. Entretanto, foi significativa na reduzida expressão do RNAm para transportador de glicose do tipo 4, tanto em tecido adiposo branco perigonadal, quanto em tecido adiposo marrom interescapular, o que pode estar relacionado com a resistência à insulina demonstrada nos filhotes.

No tecido adiposo marrom interescapular, apesar de alguns marcadores termogênicos e de diferenciação celular estarem aumentados nos filhotes de fêmeas pinealectomizadas, o mesmo não se encontra funcionalmente eficiente, conforme observado nas análises de termografia. Além disso, esses animais tendem a perder calor com maior facilidade, visto que não foram capazes de termorregular pela cauda e parecem recrutar o tecido adiposo inguinal na tentativa de compensar a ineficiência do marrom interescapular.

REFERÊNCIAS

- AARSETH, J. J.; NORDØY, E. S.; STOKKAN, K. A. Melatonin potentiates the vasoconstrictive effect of noradrenaline in renal artery from newborn hooded seals (*Cystophora cristata*) and harp seals (*Phoca groenlandica*). **Journal of Comparative Physiology - B Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology**, v. 171, n. 6, p. 491–496, 2001.
- ADEVA-ANDANY, M. M. et al. Liver glucose metabolism in humans. **Bioscience Reports**, v. 36, n. 6, 2016.
- ALONSO-VALE, M. I. C. et al. Melatonin and the circadian entrainment of metabolic and hormonal activities in primary isolated adipocytes. **Journal of Pineal Research**, v. 45, n. 4, p. 422–429, 2008.
- 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**, v. 14, n. 4, p. 293–300, 2019.
- AMARAL, F. G. et al. Melatonin synthesis impairment as a new deleterious outcome of diabetes-derived hyperglycemia. **Journal of Pineal Research**, v. 57, n. 1, p. 67–79, 2014.
- ANDRADE, D. V. Thermal windows and heat exchange. **Temperature**, v. 2, n. 4, p. 451–451, 2015.
- 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. 559–566, 2004.
- ARCHER, S. N. et al. Mistimed sleep disrupts circadian regulation of the human transcriptome. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 6, p. E682–E691, 2014.
- ARENDET, J. **Melatonin and the mammalian pineal gland**. London: Chapman & Hall: [s.n.].
- ARMSTRONG, S. M. Melatonin and circadian control in mammals. **Experientia**, v. 45, n. 10, p. 932–938, 1989.
- BAE, J. et al. Activation of pattern recognition receptors in brown adipocytes induces inflammation and suppresses uncoupling protein 1 expression and mitochondrial respiration. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 306, n. 10, p. C918–C930, 2014.
- BAMSHAD, M.; SONG, C. K.; BARTNESS, T. J. CNS origins of the sympathetic nervous system outflow to brown adipose tissue. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 276, n. 6, p. R1569–R1578, 2017.

De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

- BARJAVEL, M. J. et al. Differential expression of the melatonin receptor in human monocytes Differential Expression of the Melatonin Receptor in Human Monocytes This information is current as Marc J . Barjavel , Zahra Mamdouh , Nadjibe Raghbate and Ouahid Permissions Informatio. **The Journal of Immunology**, n. July, p. 1191–1197, 1998.
- BARTEL, D. P. MicroRNAs : Genomics, Biogenesis, Mechanism, and Function.pdf. **Cell**, v. 116, n. 2, p. 281–297, 2004.
- BARTNESS, T. J.; DEMAS, G.; SONG, C. K. Seasonal Changes in Adiposity : the Roles of the. **Exp Biol Med**, v. 227, n. 6, p. 363–376, 2002.
- BELLAVÍA, S. L. et al. Pup circadian rhythm entrainment-effect of maternal ganglionectomy or pinealectomy. **Physiology and Behavior**, v. 89, n. 3, p. 342–349, 2006.
- BELPIEDE, L. T. No A expressão do GLUT4 no tecido adipose de camundongos varia de acordo com a sensibilidade à insulina durante o desenvolvimento da obesidade. [s.l: s.n.].
- BIDDINGER, S. B.; KAHN, C. R. FROM MICE TO MEN: Insights into the Insulin Resistance Syndromes. **Annual Review of Physiology**, v. 68, n. 1, p. 123–158, 2006.
- BJÖRNHOLM, M.; ZIERATH, J. R. Insulin signal transduction in human skeletal muscle: identifying the defects in Type II diabetes: Figure 1. **Biochemical Society Transactions**, v. 33, n. 2, p. 354–357, 2005.
- BLASK, D. E. et al. Melatonin-depleted blood from premenopausal women exposed to light at night stimulates growth of human breast cancer xenografts in nude rats. **Cancer Research**, v. 65, n. 23, p. 11174–11184, 2005.
- BLIGH, J.; JOHNSON, K. G. Glossary of terms for thermal physiology. **Journal of applied physiology**, v. 35, n. 6, p. 941–961, 1973.
- BORGES-SILVA, C. N. et al. Reduced lipolysis and increased lipogenesis in adipose tissue from pinealectomized rats adapted to training. **Journal of Pineal Research**, v. 39, n. 2, p. 178–184, 2005.
- BOSTRÖM, P. et al. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. **Nature**, v. 481, n. 7382, p. 463–468, 2012.
- BOULANT, J. A. Hypothalamic neurons. Mechanisms of sensitivity to temperature. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 856, p. 108–115, 1998.
- BRADY, M. J.; PESSIN, J. E.; SALTIEL, A. R. Spatial compartmentalization in the regulation of glucose metabolism by insulin. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, v. 10, n. 10, p. 408–413, 1999.
- BRZEZINSKI, A. Melatonin in humans. **New England Journal of Medicine**, n. 336, p. 186–195, 1997.
- BUBENIK, G. A. Localization, physiological significance and possible clinical implication of gastrointestinal melatonin. **Biological Signals and receptors**, v. 10, n. 6, p. 350–366, 2001.
- CANNON, B.; NEDERGAARD, J. Brown Adipose Tissue: Function and Physiological

- Significance. **Physiological Reviews**, v. 84, n. 1, p. 277–359, 2004.
- CARDOSO ALONSO-VALE, M. I. et al. Pinealectomy Alters Adipose Tissue Adaptability to Fasting in Rats. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 53, n. 4, p. 500–506, 2004.
- CARO, J. F. Insulin resistance in obese and nonobese man. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 0021, n. 972X, p. 691–695, 1991.
- CARVALHEIRA, J.; ZECCHIN, H. Vias de Sinalização da Insulina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 46, p. 419–425, 2002.
- CECON, E.; LIU, L.; JOCKERS, R. Melatonin receptor structures shed new light on melatonin research. **Journal of Pineal Research**, v. 67, n. 4, p. 1–6, 2019.
- CHANG, L.; CHIANG, S.-H.; SALTIEL, A. R. Insulin Signaling and the Regulation of Glucose Transport. **Molecular Medicine**, v. 10, n. 7–12, p. 65–71, 2004.
- CHIEFARI, E. et al. Gestational diabetes mellitus: an updated overview. **Journal of Endocrinological Investigation**, v. 40, n. 9, p. 899–909, 2017.
- CHUFFA, L. G. DE A. et al. Melatonin promotes uterine and placental health: Potential molecular mechanisms. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 1, p. 1–21, 2020.
- CHUNG, S. T. et al. Measurements of gluconeogenesis and glycogenolysis: A methodological review. **Diabetes**, v. 64, n. 12, p. 3996–4010, 2015.
- 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.; AMARAL, F. G. A brief review about melatonin, a pineal hormone. **Archives of Endocrinology and Metabolism**, v. 62, n. 4, p. 472–479, 2018.
- COHADE, C.; MOURTZIKOS, K. A.; WAHL, R. L. “USA-Fat”: prevalence is related to ambient outdoor temperature-evaluation with 18F-FDG PET/CT. **Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine**, v. 44, n. 8, p. 1267–70, 2003.
- COMAI, S.; GOBBI, G. Unveiling the role of melatonin MT2 receptors in sleep, anxiety and other neuropsychiatric diseases: A novel target in psychopharmacology. **Journal of Psychiatry and Neuroscience**, v. 39, n. 1, p. 6–21, 2014.
- CÔRREA-GIANNELA, M. L.; MACHADO, U. F. SLC2A4 gene: a promising target for pharmacogenomics of insulin resistance. **Pharmacogenomics**, v. 14, n. 8, p. 847–850, 2013.
- COSTFORD, S.; GOWING, A.; HARPER, M.-E. Mitochondrial uncoupling as a target for drug development for the treatment of obesity. **Obesity Reviews**, v. 2, n. 4, p. 255–265, 2001.
- CYPESS, A. M. et al. Identification and Importance of Brown Adipose Tissue in Adult Humans A BS TR AC T. **N Engl J Med**, v. 360, p. 1509–1526, 2009.
- DEENEY, J. T.; PRENTKI, M.; CORKEY, B. E. Metabolic control of β -cell function. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 11, n. 4, p. 267–275, 2000.

DENTIN, R.; GIRARD, J.; POSTIC, C. Carbohydrate responsive element binding protein (ChREBP) and sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c): Two key regulators of glucose metabolism and lipid synthesis in liver. **Biochimie**, v. 87, n. 1 SPEC. ISS., p. 81–86, 2005.

DIAZ, B.; BLAZQUEZ, E. Effect of pinealectomy on plasma glucose, insulin and glucagon levels in the rat. **Hormone and Metabolic Research**, v. 18, n. 4, p. 225–229, 1986.

DRĂGOI, C. M. Insights Into Chrononutrition: the Innermost Interplay Amongst Nutrition, Metabolism and the Circadian Clock, in the Context of Epigenetic Reprogramming. **Farmacía**, v. 67, n. 4, p. 557–571, 2019.

DRAKE, A. J.; WALKER, B. R.; SECKL, J. R. Intergenerational consequences of fetal programming by in utero exposure to glucocorticoids in rats. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 288, n. 1, p. R34–R38, 2005.

DUBOCOVICH, M. L. et al. Nomenclature , Classification , and Pharmacology of G Protein-Coupled Melatonin Receptors. **Pharmacological Reviews**, v. 62, n. 3, p. 343–380, 2010.

ECKEL-MAHAN, K. L. et al. Circadian oscillation of hippocampal MAPK activity and cAMP: Implications for memory persistence. **Nature Neuroscience**, v. 11, n. 9, p. 1074–1082, 2008.

EL-DEEN, R. M.; HEEBA, G. H. Comparative effectiveness of amelioration of high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver in rats. p. 1–12, 2019.

FELDMANN, H. M. et al. UCP1 ablation induces obesity and abolishes diet-induced thermogenesis in mice exempt from thermal stress by living at thermoneutrality. **Cell Metabolism**, v. 9, n. 2, p. 203–209, 2009.

FERREIRA, D. S. et al. Maternal melatonin programs the daily pattern of energy metabolism in adult offspring. **PLoS ONE**, v. 7, n. 6, p. 743–751, 2012a.

FERREIRA, D. S. et al. Maternal melatonin programs the daily pattern of energy metabolism in adult offspring. **PLoS ONE**, v. 7, n. 6, 2012b.

FRASCHINI, F. et al. Correspondence and short communications melatonin and immunity. **Acta Oncologica**, v. 29, n. 6, p. 775, 1990.

FROMME, T.; KLINGENSPOR, M. Uncoupling protein 1 expression and high-fat diets. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 300, n. 1, p. R1–R8, 2011.

GANONG, W. F. **Fisiologia Médica**. 22 ed ed. Rio de Janeiro: [s.n.].

GAO, M. et al. Concurrent Activation of Liver X Receptor and Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alpha Exacerbates Hepatic Steatosis in High Fat Diet-Induced Obese Mice. **PLoS ONE**, v. 8, n. 6, p. 1–11, 2013.

GERSTNER, J. R. et al. Cycling Behavior and Memory Formation. **Journal of Neuroscience**, v. 29, n. 41, p. 12824–12830, 2009.

GIBSON, T.; JARRETT, J. Diurnal variation in insulin sensitivity. **The Lancet**, v. 300, n. 7784, p. 947–948, 1972.

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.

GOLOZOUBOVA, VALERIA; HOHTOLA, E.; MATTHIAS, A.; JACOBSSON, A.; CANNON, B.; NEDERGAARD, J. Only UCP1 can mediate adaptive nonshivering thermogenesis in the cold. **The FASEB Journal**, v. 15, p. 2048–2050, 2001.

GOMEZ, F. J. V. et al. Monitoring melatonin and its isomer in *Vitis vinifera* cv. Malbec by UHPLC-MS/MS from grape to bottle. **Journal of Pineal Research**, v. 52, n. 3, p. 349–355, 2012.

GORDON, C. J. Thermal biology of the laboratory rat. **Physiology and Behavior**, v. 47, n. 5, p. 963–991, 1990.

GOSH, G. et al. Melatonin protects against oxidative damage and restores expression. Of GLUT4 gene in the hyperthyroid rat heart. **Journal of Pineal Research**, v. 42, p. 71–82, 2007.

GUERRERO, J. M.; POZO, D. in the Enhanced IL-6 Production by Melatonin in U937 Cells. **Biological Signals and Receptors**, v. 9, p. 197–202, 2000.

GUETHER, B. et al. Evidence for a circadian rhythm of insulin secretion. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 271, n. 2, p. 246–252, 1996.

GUILLEMAIN, G. et al. The large intracytoplasmic loop of the glucose transporter GLUT2 is involved in glucose signaling in hepatic cells. **Journal of Cell Science**, v. 113, n. 5, p. 841–847, 2000.

HABER, E. P. et al. Secreção da insulina: Efeito autócrino da insulina e modulação por ácidos graxos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 45, n. 3, p. 219–227, 2001.

HOTAMISLIGIL, G. S. et al. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. **Journal of Clinical Investigation**, v. 95, n. 5, p. 2409–2415, 1995.

HOTAMISLIGIL, G. S.; SHARGILL, N. S.; SPIEGELMAN, B. M. Adipose expression of tumor necrosis factor- (α): Direct. **Science**, v. 259, n. 5091, p. 87–92, 1993.

HUANG, Z.; LIU, T.; BORJIGIN, J. N-terminal residues regulate proteasomal degradation of AANAT. **Journal of Pineal Research**, v. 48, n. 3, p. 290–296, 2010.

IYNEDJIAN, P. B. et al. Glucokinase and cytosolic phosphoenolpyruvate carboxykinase (GTP) in the human liver. Regulation of gene expression in cultured hepatocytes. **Journal of Clinical Investigation**, v. 95, n. 5, p. 1966–1973, 1995.

JAMES, D. E. ; BURLEIGH, K. M. ; KRAEGEN, E. W. Time dependence of insulin action in muscle and adipose tissue in the rat in vivo: An increasing response in adipose tissue with

time. **Diabetes**, v. 34, n. OCTOBER 1985, p. 1049–1054, 1985.

JANSKÝ, L. Non-Shivering Thermogenesis and Its Thermoregulatory Significance. **Biological Reviews**, v. 48, n. 1, p. 85–132, 1973.

JENNI, O. G. et al. **Blue Blocker Glasses as a Countermeasure for Alerting Effects of Evening Light-Emitting Diode Screen Exposure in Male Teenagers** **Journal of Adolescent Health**, 2014. Disponível em:
<<http://dx.doi.org/10.1016/j.jadohealth.2014.08.002>>

KAHN, C. . The molecular mechanism of insulin action. **Annu. Rev. Med**, v. 36, p. 429–451, 1985.

KAJIMURA, S.; SEALE, P.; SPIEGELMAN, B. M. Transcriptional Control of Brown Fat Development. **Cell Metabolism**, v. 11, n. 4, p. 257–262, 2010.

KALINOVICH, A. V. et al. UCP1 in adipose tissues: two steps to full browning. **Biochimie**, v. 134, p. 127–137, 2017.

KANZAKI, M. Insulin receptor signals regulating GLUT4 translocation and actin dynamics. **Endocrine Journal**, v. 53, n. 3, p. 267–293, 2006.

KARASEK, M. Does melatonin play a role in aging processes? **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 58, n. SUPPL. 6, p. 105–113, 2007.

KASUGA, M. ; KARLSSON, F. A. .; KAHN, C. R. Insulin stimulates the phosphorylation of the 95,000-dalton subunit of its own receptor. **Science**, v. 215, n. 4529, p. 185–187, 1982.

KENNAWAY, D. J.; GOBLE, F. C.; STAMP, G. E. Factors influencing the development of melatonin rhythmicity in humans. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 81, p. 1525–1532, 1996.

KIM, S. J. et al. Melatonin ameliorates ER stress-mediated hepatic steatosis through miR-23a in the liver. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 458, n. 3, p. 462–469, 2015.

KLEIN, D. C. Evidence for the placental transfer of 3 H-acetylmelatonin. **Nature: New Biology**, v. 237, p. 117–118, 1972.

KLEIN, D. C. et al. 14-3-3 Proteins and photoneuroendocrine transduction: role in controlling the daily rhythm in melatonin. **Biochemical Society Transactions**, v. 30, n. 4, p. 365–373, 2002.

KLEIN, D. C.; BERG, G. R.; WELLER, J. Melatonin synthesis: adenosine 3', 5'-monophosphate and norepinephrine stimulate N-acetyltransferase. **Sciences**, v. 168, p. 979–980, 1970.

KOIVISTO, V. A.; PELKONEN, R.; CANTELL, K. Effect of interferon on glucose tolerance and insulin sensitivity. **Diabetes**, v. 38, n. 5, p. 641–647, 1989.

KONTUREK, S. J. et al. Localization and biological activities of melatonin in intact and diseased Gastrointestinal Tract (GIT). **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 58, n. 3,

p. 381–405, 2007.

KWAK, S. H. et al. A genome-wide association study of gestational diabetes mellitus in Korean women. **Diabetes**, v. 61, n. 2, p. 531–541, 2012.

LAU, C.; ROGERS, J. M. Embryonic and fetal programming of physiological disorders in adulthood. **Birth Defects Research Part C - Embryo Today: Reviews**, v. 72, n. 4, p. 300–312, 2004.

LEAN, M. E. J. et al. Brown adipose tissue uncoupling protein content in human infants, children and adults. **Clinical Science**, v. 71, n. 3, p. 291–297, 1986.

LEJA-SZPAK, A. et al. Melatonin stimulates HSP27 phosphorylation in human pancreatic carcinoma cells (PANC-1). **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 58, n. SUPPL. 3, p. 177–188, 2007.

LIANG, X. et al. Maternal high-fat diet during lactation impairs thermogenic function of brown adipose tissue in offspring mice. **Scientific Reports**, v. 6, n. May, p. 1–12, 2016.

LIANG, X. et al. Maternal MTNR1B genotype , maternal gestational weight gain , and childhood obesity. **Original Research Communication**, p. 1–9, 2019.

LIMA, F. B.; CURI, R. Moléculas ativas produzidas por órgãos não endócrinos. In: KOOGAN, G. (Ed.). **AIRES, M. M. Fisiologia**. 3. ed ed. Rio de Janeiro: [s.n.]. p. 1139–1156.

LIMA, F. B. et al. Pinealectomy causes glucose intolerance and decreases adipose cell responsiveness to insulin in rats. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 275, n. 6 38-6, 1998.

LIMA, F. B. et al. Pinealectomy causes glucose intolerance and decreases adipose cell responsiveness to insulin in rats. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 275, n. 6, p. E934–E941, 2017.

LOCKIE, S. et al. Brown adipose tissue thermogenesis in the resistance to and reversal of obesity: A potential new mechanism contributing to the metabolic benefits of proglucagon-derived peptides. **Adipocyte**, v. 2, n. 4, p. 196–200, 2013.

LÓPEZ, A. et al. Melatonin protects the mitochondria from oxidative damage reducing oxygen consumption, membrane potential, and superoxide anion production. **Journal of Pineal Research**, v. 46, n. 2, p. 188–198, 2009.

LU, T. X.; ROTHENBERG, M. E. Diagnostic, functional, and therapeutic roles of microRNA in allergic diseases. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 132, n. 1, p. 3–13, 2013.

MACHADO, U. F.; SHIMIZU, I.; SAITO, M. Reduced content and preserved translocation of glucose transporter (GLUT 4) in white adipose tissue of obese mice. **Physiology and Behavior**, v. 55, n. 4, p. 621–625, 1994.

MADRIGAL-MATUTE, J.; CUERVO, A. M. Regulation of Liver Metabolism by Autophagy. **Gastroenterology**, v. 150, n. 2, p. 328–339, 2016.

- MAICKEL, R. P. . et al. Antagonism of physostigmine induced hypothermia and neurocrine changes following exposure to different environmental temperatures. v. 15, p. 873–884, 1991.
- MÅRTENSSON, L. G. E.; ANDERSSON, R. G. G.; BERG, G. Melatonin together with noradrenaline augments contractions of human myometrium. **European Journal of Pharmacology**, v. 316, n. 2–3, p. 273–275, 1996.
- MCDEVITT, R. M. et al. De novo lipogenesis during controlled overfeeding with sucrose or glucose in lean and obese women. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 74, n. 6, p. 737–746, 2001.
- MCKINLEY, M. J. et al. Circumventricular organs: Neuroendocrine interfaces between the brain and the hemal milieu. **Frontiers Neuroendocrinology**, v. 11, n. 2, p. 91–127, 1990.
- MENDES, C. **Melatonina e termorregulação**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2017.
- MESSNER, M. et al. Presence of melatonin in the human hepatobiliary-gastrointestinal tract. **Life Sciences**, v. 69, n. 5, p. 543–551, 2001.
- MICHAEL, M. D. et al. Loss of insulin signaling in hepatocytes leads to severe insulin resistance and progressive hepatic dysfunction. **Molecular Cell**, v. 6, n. 1, p. 87–97, 2000.
- MIGLIORI, M. L. et al. Daily variation in melatonin synthesis and arylalkylamine N-acetyltransferase activity in the nematode *Caenorhabditis Elegans*. **Journal of Pineal Research**, v. 53, n. 1, p. 38–46, 2012.
- MILLER, A. M. et al. MiR-155 Has a Protective Role in the Development of Non-Alcoholic Hepatosteatosis in Mice. **PLoS ONE**, v. 8, n. 8, 2013.
- MOHELL, N. Alpha 1-adrenergic receptors in brown adipose tissue. Thermogenic significance and mode of action. **Acta physiologica Scandinavica. Supplementum**, v. 530, p. 1–62, 1984.
- MONTILLA, P. L. et al. Protective role of melatonin and retinol palmitate in oxidative stress and hyperlipidemic nephropathy induced by adriamycin in rats. **Journal of Pineal Research**, v. 25, n. 2, p. 86–93, 1998.
- MORRIS, C. J. et al. Endogenous circadian system and circadian misalignment impact glucose tolerance via separate mechanisms in humans. **PNAS**, v. 13, p. E2225–E2234, 2015.
- MÖSSENBÖCK, K. et al. Browning of white adipose tissue uncouples glucose uptake from insulin signaling. **PLoS ONE**, v. 9, n. 10, 2014.
- MOTTA-TEIXEIRA, L. C. et al. The absence of maternal pineal melatonin rhythm during pregnancy and lactation impairs offspring physical growth, neurodevelopment, and behavior. **Hormones and Behavior**, v. 105, n. September, p. 146–156, 2018.
- MUECKLER, M. Facilitative glucose transporters. **European Journal of Biochemistry**, v. 219, n. 3, p. 713–725, 1994.
- NAGASHIMA, K. . et al. Neuronal circuitries involved in thermoregulation. **Autonomic**

Neuroscience: Basic and Clinical, v. 85, n. 1–3, p. 18–25, 2000.

NEBAIHI, H. M. AL et al. Dietary-induced obesity, hepatic cytochrome P450 and lidocaine metabolism: Comparative effects of high-fat diets in mice and rats and reversibility of effects with normalization of diet. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2019.

NEDERGAARD, J.; BENGTSSON, T.; CANNON, B. Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 293, n. 2, p. E444–E452, 2007.

NEHME, P. A. et al. Reduced melatonin synthesis in pregnant night workers: Metabolic implications for offspring. **Medical Hypotheses**, v. 132, n. August, p. 1–5, 2019a.

NEHME, P. A. et al. Melatonin profiles during the third trimester of pregnancy and health status in the offspring among day and night workers: A case series. **Neurobiology of Sleep and Circadian Rhythms**, v. 6, n. March, p. 70–76, 2019b.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 6. ed. [s.l.: s.n.].

NELSON, K. A.; WALSH, D.; SHEEHAN, F. A. The cancer anorexia-cachexia syndrome. **Journal of Clinic Oncology**, v. 12, n. 1, p. 213–225, 1994.

NISA, H. et al. The Circadian Rhythm-Related MTNR1B Genotype, Gestational Weight Gain, and Postpartum Glycemic Changes. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 103, n. 6, p. 2284–2290, 2018.

NISHIDA, S. et al. Effect of pinealectomy on plasma levels of insulin and leptin and on hepatic lipids in type 2 diabetic rats. **Journal of Pineal Research**, v. 35, n. 4, p. 251–256, 2003.

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. 1253–1263, 2011.

NOV, O. et al. Interleukin-1 β Regulates Fat-Liver Crosstalk in Obesity by Auto-Paracrine Modulation of Adipose Tissue Inflammation and Expandability. **PLoS ONE**, v. 8, n. 1, 2013.

OKATANI, Y. et al. Maternal-fetal transfer of melatonin in pregnant women near term. **Journal of Pineal Research**, v. 25, n. 3, p. 129–134, 1998.

OKATANI, Y.; WAKATSUKI, A.; KANEDA, C. Melatonin increases activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase in fetal rat brain. **Journal of Pineal Research**, v. 28, n. 2, p. 89–96, 2000.

OLSON, A. L. Regulation of GLUT4 and Insulin-Dependent Glucose Flux. **ISRN Molecular Biology**, v. 2012, p. 1–12, 2012.

PAN, D. et al. MicroRNA-378 controls classical brown fat expansion to counteract obesity. **Nature Communications**, v. 5, p. 1–12, 2014.

PANDI-PERUMAL, S. R. et al. Melatonin: Nature's most versatile biological signal? **FEBS Journal**, v. 273, n. 13, p. 2813–2838, 2006.

PARDRIDGE, W. M.; MIETUS, L. J. Transport of Albumin-bound Melatonin Through the Blood-Brain Barrier. **Journal of Neurochemistry**, v. 34, n. 6, p. 1761–1763, 1980.

PARK, ET AL. Distinction of white, beige and brown adipocytes derived from mesenchymal stem cells. **World Journal of Stem Cells**, v. 6, n. 1, p. 33, 2014.

PERRY, R. J. et al. The role of hepatic lipids in hepatic insulin resistance and type 2 diabetes. **Nature**, v. 510, n. 7503, p. 84–91, 2014.

PICINATO, M. C. et al. Activation of insulin and IGF-1 signaling pathways by melatonin through MT1 receptor in isolated rat pancreatic islets. **Journal of Pineal Research**, v. 44, n. 1, p. 88–94, 2008.

PICKUP, J. C. et al. Diabetologia association of acute-phase reactants and interleukin-6 with metabolic syndrome X. p. 1286–1292, 1997.

RAMÍREZ, C. M. et al. MicroRNA 33 Regulates Glucose Metabolism. **Molecular and Cellular Biology**, v. 33, n. 15, p. 2891–2902, 2013.

REA, S.; JAMES, D. E. Moving GLUT4: The biogenesis and trafficking of GLUT4 storage vesicles. **Diabetes**, v. 46, n. 11, p. 1667–1677, 1997.

REITER, R. J. Melatonin: The chemical expression of darkness. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 79, n. 1–3, 1991.

REITER, R. J. Functional aspects of the pineal hormone melatonin in combating cell and tissue damage induced by free radicals. **European Journal of Endocrinology**, v. 134, n. 4, p. 412–420, 1996.

REITER, R. J. et al. Melatonin tryptophan derivatives as free radical scavengers and antioxidants. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 467, p. 379–387, 1999.

REITER, R. J. et al. Melatonin and Tryptophan Derivatives as Free Radical Scavengers and Antioxidants. v. 1991, p. 379–387, 2011.

REITER, R. J. et al. Melatonin and stable circadian rhythms optimize maternal, placental and fetal physiology. **Human Reproduction Update**, v. 20, n. 2, p. 293–307, 2014.

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. 100–102, 1996.

ROBERTS. Afternoon glucose tolerance testing: a key to the pathogenesis, early diagnosis and prognosis of diabetogenic hyperinsulinism. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 12, n. 5, p. 423–472, 1964.

ROMAN, S. et al. Brown adipose tissue and novel therapeutic approaches to treat metabolic disorders. **Translational Research**, v. 165, n. 4, p. 464–479, 2015.

ROMANOVSKY, A. A. ; IVANOV, A. I. ; SHIMANSKY, Y. P. Selected contribution: ambient temperature for experiments in rats: a new method for determining the zone of thermal neutrality. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 92, n. 6, p.

2667–2679, 2002.

ROSENBAUM, M.; LEIBEL, R. L. Role of leptin in energy homeostasis in humans. **Journal of Endocrinology**, v. 223, n. 1, p. T83–T96, 2014.

ROSENFELD, A.; WELLER, A. Behavioral effects of environmental enrichment during gestation in WKY and Wistar rats. **Behavioural Brain Research**, v. 233, n. 2, p. 245–255, 2012.

ROSENWALD, M.; WOLFRUM, C. The origin and definition of brite versus white and classical brown adipocytes. **Adipocyte**, v. 3, n. 1, p. 4–9, 2014.

ROTHWELL, N. J.; STOCK, M. J. Influence of noradrenaline on blood flow to brown adipose tissue in rats. **European Journal of Physiology**, v. 242, n. 3, p. 237–242, 1981.

SAAD, A. et al. Diurnal Pattern to Insulin Secretion and Insulin Action in Healthy Individuals. **Diabetes**, v. 61, p. 2691–2700, 2012.

SAITO, M. et al. High incidence of metabolically active brown adipose tissue in healthy adult humans: Effects of cold exposure and adiposity. **Diabetes**, v. 58, n. 7, p. 1526–1531, 2009.

SCHENKER, S. et al. Antioxidant transport by the human placenta. **Clinical Nutrition**, v. 17, n. 4, p. 159–167, 1998.

SCHULZ, T. J. et al. Brown-fat paucity due to impaired BMP signalling induces compensatory browning of white fat. **Nature**, v. 495, n. 7441, p. 379–383, 2013.

SEALE, P. et al. PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch. **Nature**, v. 454, n. 7207, p. 961–967, 2008.

SEALE, P. Transcriptional regulatory circuits controlling brown fat development and activation. **Diabetes**, v. 64, n. 7, p. 2369–2375, 2015.

SEALE, P.; KAJIMURA, S.; SPIEGELMAN, B. M. Transcriptional control of brown adipocyte development and physiological function--of mice and men. **Genes and Development**, v. 23, n. 7, p. 788–797, 2009.

SEALS, D. R.; BELL, C. Perspectives in diabetes: chronic sympathethi activation. consequence and cause of age-associated obesity. **Diabetes**, v. 53, n. February, p. 276–284, 2004.

SELL, H.; DESHAIES, Y.; RICHARD, D. The brown adipocyte: Update on its metabolic role. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 36, n. 11, p. 2098–2104, 2004.

SERAPHIM, P. M. et al. Quantification of GLUT4 transporter in insulin-sensitive tissues from pinealectomized rats. **Pineal Update**, p. 99–106, 1997.

SERON-FERRE, M. et al. Impact of maternal melatonin suppression on amount and functionality of brown adipose tissue (BAT) in the newborn sheep. **Frontiers in Endocrinology**, v. 5, n. DEC, p. 1–11, 2014.

SHIEH, J. M. et al. Melatonin ameliorates high fat diet-induced diabetes and stimulates glycogen synthesis via a PKC ζ -Akt-GSK3 β pathway in hepatic cells. **Journal of Pineal Research**, v. 47, n. 4, p. 339–344, 2009.

SMALL, L. et al. Modeling insulin resistance in rodents by alterations in diet : what have high-fat and high-calorie diets revealed ? 2020.

STEHLE, J. H. et al. A survey of molecular details in the human pineal gland in the light of phylogeny, structure, function and chronobiological diseases. **Journal of Pineal Research**, v. 51, n. 1, p. 17–43, 2011.

STENVERS, D. J. Circadian clocks and insulin resistance. **Nature Reviews Endocrinology**, 2018.

STOCK, M. J. Thermogenesis and brown fat: relevance to human obesity. **Transfusion Medicine and Hemotherapy**, v. 16, n. 6, p. 282–284, 1989.

STOCK, R. &. A role for dietary induced thermogenesis. **Nature**, 1979.

STUDY, H. Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome (HAPO) study: preeclampsia. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 202, n. 3, p. 255.e1-255.e7, 2010.

SUZUKI, K. The developing world of DOHaD. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, v. 9, n. 3, p. 266–269, 2018.

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. 181–197, 2002.

TAN, D. X. et al. Significance and application of melatonin in the regulation of brown adipose tissue metabolism: Relation to human obesity. **Obesity Reviews**, v. 12, n. 3, p. 167–188, 2011.

TAPPY, L.; JÉQUIER, E.; SCHNEITER, P. Autoregulation of Glucose Production. **News in Physiological Science**, v. 15, p. 198–2002, 2000.

THORENS, B.; CHARRON, M. J.; LODISH, H. F. Molecular physiology of glucose transporters. **Diabetes Care**, v. 13, n. 3, p. 209–218, 1990.

TOKER, A.; MARMIROLI, S. Signaling specificity in the Akt pathway in biology and disease. **Advances in Biological Regulation**, v. 55, p. 28–38, 2014.

TOMÁS-ZAPICO, C.; COTO-MONTES, A. A proposed mechanism to explain the stimulatory effect of melatonin on antioxidative enzymes. **Journal of Pineal Research**, v. 39, n. 2, p. 99–104, 2005.

TORRES-FARFAN, C. et al. Maternal melatonin effects on clock gene expression in a nonhuman primate fetus. **Endocrinology**, v. 147, n. 10, p. 4618–4626, 2006.

TOZZO, E.; GNUDI, L.; KAHN, B. B. Amelioration of insulin resistance in streptozotocin diabetic mice by transgenic overexpression of GLUT4 driven by an adipose-specific promoter. **Endocrinology**, v. 138, n. 4, p. 1604–1611, 1997.

TRAN, T. T.; KAHN, C. R. Transplantation of adipose tissue and stem cells: Role in metabolism and disease. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 6, n. 4, p. 195–213, 2010.

TRICOIRE, H. et al. Origin of cerebrospinal fluid melatonin and possible function in the integration of photoperiod. **Journal of reproduction and fertility-Supplement**, v. 61, p. 311–321, 2003.

VAN MARKEN LICHTENBELT, W. D. et al. Cold-Activated Brown Adipose Tissue in Healthy Men. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 15, p. 1500–1508, 2009.

VERMOUTH, N. T. . et al. Maternal coordination of the daily rhythm of malate dehydrogenase activity in testes from young rats: effect of maternal sympathetic denervation of the pineal gland and administration of melatonin. **Chronobiology Internal**, v. 12, p. 8–18, 1995.

VIRTANEN, ET AL. Functional brown adipose tissue in healthy adults. **The New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 15, p. 1518–1525, 2009.

WANG, Q. et al. Brown adipose tissue activation is inversely related to central obesity and metabolic parameters in adult human. **PLoS ONE**, v. 10, n. 4, p. 1–13, 2015.

WARDZALA, L. J.; CUSHMAN, S. W. .; SALANS, L. B. Mechanism of Insulin Action on Glucose Transport in the Isolated Rat Adipose Cell. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 253, n. 22, p. 8002–8005, 1978.

WILKINSON, D.; SHEPHERD, E.; EUAN, M. W. Melatonin for women in pregnancy for neuroprotection of the fetus. n. 3, 2016.

WOLDEN-HANSON, T. et al. Daily melatonin administration to middle-aged male rats suppresses body weight, intraabdominal adiposity, and plasma leptin and insulin independent of food intake and total body fat. **Endocrinology**, v. 141, n. 2, p. 487–497, 2000.

WU, J. et al. Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. **Cell**, v. 150, n. 2, p. 366–376, 2012.

WU, Y. H. et al. Distribution of MT1 melatonin receptor immune reactivity in the human hypothalamus and pituitary gland: colocalization of MT1 with vasopressin, oxytocin, and corticotropin-releasing hormone. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 499, n. 6, p. 897–910, 2006.

XU, L. et al. Roles of chemokines and chemokine receptors in obesity-associated insulin resistance and nonalcoholic fatty liver disease. **Biomolecules**, v. 5, n. 3, p. 1563–1579, 2015.

YIFU QIU, K. D. N. J. I. O. et al. Eosinophils and Type 2 Cytokine Signaling in Macrophages Orchestrate Development of Functional Beige Fat. **Cell**, v. 157, n. 6, p. 1292–1308, 2014.

YONESHIRO, T. et al. Age-related decrease in cold-activated brown adipose tissue and accumulation of body fat in healthy humans. **Obesity**, v. 19, n. 9, p. 1755–1760, 2011.

YU, L.; SCHAAD, N. C.; KLEIN, D. C. Calcium Potentiates Cyclic AMP Stimulation of Pineal Arylalkylamine N-Acetyltransferase. **Journal of Neurochemistry**, v. 60, n. 4, p.

1436–1443, 1993.

YUDKIN, J. S. et al. C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, v. 19, n. 4, p. 972–978, 1999.

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. 141–148, 2003.

ZHANG, Y. et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, 1994.