



1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO – PRPPG
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL – PPGBA

SOLANGE BEZERRA DA SILVA

**INFLUÊNCIA DA MELATONINA EXÓGENA SOBRE PARÂMETROS
SANGUÍNEOS, HORMONAIS, METABÓLICOS E INFLAMATÓRIOS EM
RATAS ALIMENTADAS COM DIETA HIPERCALÓRICA DURANTE A
PRENHEZ**

RECIFE
2016



27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO – PRPPG
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL – PPGBA

SOLANGE BEZERRA DA SILVA

INFLUÊNCIA DA MELATONINA EXÓGENA SOBRE PARÂMETROS
SANGUÍNEOS, HORMONAIS, METABÓLICOS E INFLAMATÓRIOS EM
RATAS ALIMENTADAS COM DIETA HIPERCALÓRICA DURANTE A
PRENHEZ

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção do título de Doutor em Biociência Animal. Área de Concentração em Morfofisiologia Animal.

Orientador:

Prof^a. Dr^a. Valéria Wanderley Teixeira

Co-orientadores:

Prof. Dr. Álvaro Aguiar Coelho Teixeira

Prof. Dr. Anísio Francisco Soares

RECIFE

2016

55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79

SOLANGE BEZERRA DA SILVA

INFLUÊNCIA DA MELATONINA EXÓGENA SOBRE PARÂMETROS SANGUÍNEOS, HORMONAIS, METABÓLICOS E INFLAMATÓRIOS EM RATAS ALIMENTADAS COM DIETA HIPERCALÓRICA DURANTE A PRENHEZ

Aprovada em de fevereiro de 2016

BANCA EXAMINADORA:

Prof^a. Dr^a. Valéria Wanderley Teixeira - (Orientador)

Prof. Dr. Álvaro Aguiar Coelho Teixeira - UFRPE

Prof. Dr. Anísio Francisco Soares - UFRPE

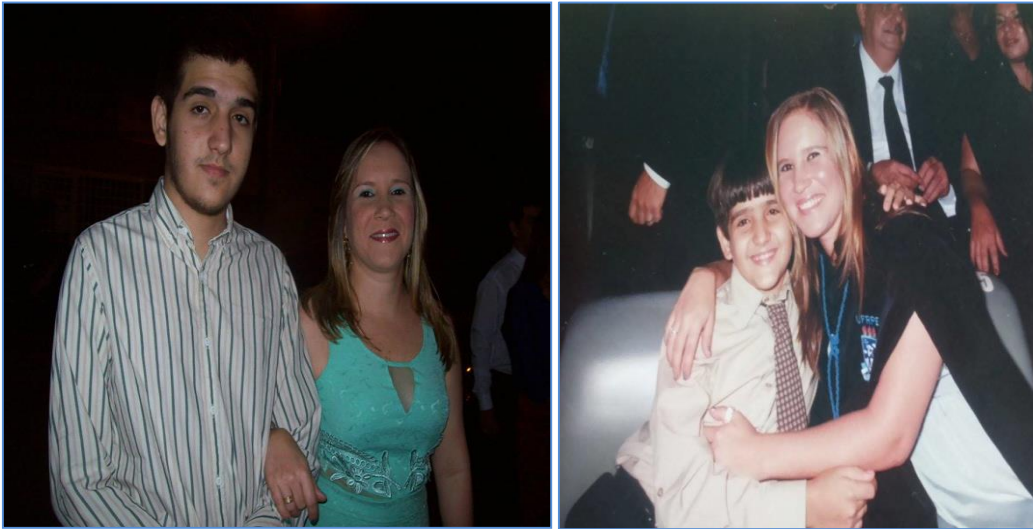
Prof. Dr. Leucio Duarte Vieira Filho – UFPE

Prof. Dr. Lécio Leone de Almeida - URCA

80

DEDICATÓRIA

81



82

83

84

85

86

87

88

89

90

91

92

93

94

95

96

“Ao meu filho Mateus por ter me feito experimentar o maior e mais forte de todos os amores. Quando você chegou eu era tão jovem e imatura... Mas você me mostrou o amor maternal, capaz de ultrapassar todos os limites, enfrentar todos os obstáculos e seguir em frente com fé e um sorriso no rosto. Tudo se tornava tão pequeno perto desse amor... Você me fez forte, confiante e persistente, mas ao mesmo tempo paciente e misericordiosa. Obrigada por todos os conselhos (e não foram poucos), por continuar me dando a força necessária pra não desistir de tudo... Por ter me permitido crescer em todos os sentidos. Por ter feito parte da minha vida e se tornar eterno durante sua existência aqui na Terra e em outro plano (em breve nos encontraremos se Deus assim permitir). Por ter sido meu eixo, meu ponto de equilíbrio, meu orgulho e minha alegria de viver. Você foi, é e sempre será a melhor coisa que Deus colocou em minha vida, mesmo você muitas vezes não acreditando nisso. Tudo perdeu a cor quando você se foi e meus dias sem sua presença não fazem muito sentido... Sem você aqui não sou e nunca mais serei a mesma... Minha felicidade sem você é incompleta. Eu sou incompleta. Mas vou continuar seguindo... Por você! Pois tenho certeza que nos encontraremos. A força do nosso amor só nós sabemos, só nós entendemos e só nós sentimos. Nunca vamos nos separar... Nunca. Você sempre estará aqui meu anjo de luz. Te amo pra sempre.”

97

98

99

“Ao meu pai José Bezerra por estar lá em cima continuando a cuidar de mim e agora cuidando também do nosso Mateus, seu neto. Sei que me ver doutora era um sonho tão seu quanto meu pai, e aí está ele sendo realizado. Obrigada por me ensinar o que é ser uma pessoa correta. Amo-te.”

100

101

102

103

104

“Serás para mim único no mundo e eu serei para ti única no mundo.”

Antoine de Saint-Exupéry

AGRADECIMENTOS

105
106
107
108
109
110
111
112
113
114
115
116
117
118
119
120
121
122
123
124
125
126
127
128
129
130
131
132
133
134
135
136
137
138

Primeiramente a Deus, o guia da minha vida que me agraciou com paciência, resignação, sabedoria, coragem e força para que eu chegasse até aqui. A minha orientadora, Prof^a Valéria Wanderley Teixeira, pela oportunidade que me foi dada, pela paciência, compreensão, força e broncas (sempre necessárias e com a melhor das intenções, tenho certeza!) durante todo esse tempo de convivência. Aos meus coorientadores, Professores Álvaro Aguiar e Anísio Francisco por todo apoio e incentivo nas horas de necessidade. Ao Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE, em especial a Cleyton e Scheilla pela amizade, simpatia e por toda sua ajuda. Ao laboratório de ultraestrutura do Ageu Magalhães e em especial a professora Christina Peixoto e as amigas Amanda e Wilma por toda a ajuda no desenvolvimento do trabalho, pelas dúvidas tiradas e ensinamentos transmitidos. Ao professor Lêucio Duarte (uma das pessoas mais pacientes que tive o prazer de conhecer) pelo exemplo de cooperação, disponibilizando o laboratório e nos recebendo para a realização dos experimentos com tanta amizade. Aos meus amigos de laboratório Ismaelita, Cínti, Caroles, Hilda (nega), Welma, Aline, Lécio, Fernanda Ângelo, Fernanda Miguel, Jeanine, Franklin, Clóvis... Enfim a todos que de alguma forma me ajudaram nos experimentos (e que sufoco aquelas gaiolas metabólicas!), na discussão dos resultados e principalmente pela amizade sincera que construímos durante todos esses anos de convivência. A todos os meus amigos e familiares, em especial a minha mãe Maria Neuza (Eita mulher guerreira!) que próximo ou à distância sempre me auxiliaram nos momentos que mais precisei, e a quem sempre serei grata por tudo que fizeram por mim. A minha mãe de coração Noemia Alves e seu esposo Francisco de Assis, pela paciência, cuidado, amor e carinho dedicados a mim. Obrigada por estarem comigo nos momentos mais difíceis da minha vida. Ao meu “namorado” Emerson Balbino, por todo amor, cuidado, carinho, compreensão e companheirismo. Deus não poderia ter colocado alguém melhor que você no meu caminho. A família que ganhei quando te conheci... Pessoas maravilhosas que estão sempre me dando força. A André e Renata, muito obrigado pela ajuda, companheirismo e momentos de risadas e desabafos no biotério! A CAPES pela bolsa de estudo concedida. Ao

139 Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE por ter propiciado
140 meios de desenvolver esse trabalho. A UFRPE, local que considero minha
141 segunda casa e que amo de todo coração. Enfim... Á todos que passaram pela
142 minha vida deixando suas marcas, ajuda ou ensinamentos, e que de alguma
143 forma sempre serão especiais.

144

145

146

147

148

149

150

151

152

153

154

155

156

157

158

159

160

161

162

163

164

165

166

167

168

169

170

171

172

173 **RESUMO**

174

175 Atualmente tem-se buscado estratégias terapêuticas como a melatonina
176 para abrandar os sintomas das comorbidades relacionadas à obesidade, pois
177 esta tem sido associada à redução do peso corporal. Assim, a presente
178 pesquisa objetivou avaliar parâmetros metabólicos, bioquímicos e
179 histoquímicos no fígado, bem como analisar a interação da melatonina com a
180 histofisiologia renal e o sistema imune em ratas prenhes alimentadas com dieta
181 hipercalórica associada ou não a esse hormônio. Utilizou-se 40 ratas prenhes
182 divididas nos grupos (n=10): I: ratas submetidas à dieta comum (D); II: ratas
183 submetidas à dieta hipercalórica (DH); III: ratas submetidas à dieta
184 hipercalórica + melatonina (0,5 mg/kg) (DH+Mel) e IV: ratas submetidas à dieta
185 comum + melatonina (0,5 mg/kg) (D+Mel). Os resultados revelaram que ao 7°
186 dia as fêmeas dos grupos DH e DH+Mel apresentaram ganho de peso
187 corporal. Ao 14° e 20° dia, apenas as fêmeas do grupo DH mantiveram essa
188 condição. Não houve diferenças para a ingestão sólida e líquida, ao 7° dia. Ao
189 14° e 20° dia, houve elevação desse parâmetro nas fêmeas do grupo DH. Os
190 níveis séricos de ALT, AST, GAMA GT, fosfatase alcalina, amilase, lipase,
191 frutossamina, colesterol total, LDL, triglicérides, HDL, glicose e insulina
192 aumentaram aos 7° e 14° dia nas fêmeas do grupo DH, com exceção dos níveis
193 de amilase que não diferiu entre as fêmeas dos grupos (7° dia) e redução da
194 FA e HDL (14° dia). Nas fêmeas dos grupos tratados com melatonina os níveis
195 de amilase foram reduzidos. Ao 20° dia, as fêmeas do grupo DH apresentaram
196 o mesmo comportamento observado ao 14° dia. Porém as fêmeas que
197 receberam a melatonina exibiram aumento da FA e do HDL, enquanto os
198 demais parâmetros apresentaram valores reduzidos em relação aos grupos D e
199 DH. A quantidade de lipídio no fígado, bem como o teor de colágeno foram
200 significativamente elevados nas fêmeas do grupo DH em relação aos demais
201 grupos. Nas fêmeas do grupo DH+Mel houve diminuição significativa na
202 quantidade de gordura e de colágeno. Nas fêmeas dos grupos D, DH+Mel e
203 D+Mel não ocorreram diferenças em relação à quantidade de glicogênio
204 hepático, diferindo das fêmeas do grupo DH que apresentou níveis elevados
205 em relação a estes. Observou-se que as fêmeas do grupo DH apresentaram
206 alterações hematológicas, urinárias e bioquímicas significativas, melhorando os

207 níveis de uréia, creatinina, glicose, bilirrubina, leucócitos, e plaquetas, sendo
208 tais níveis normalizados pela administração da melatonina. Além disso, a
209 marcação de colágeno e citocinas próinflamatórias no baço (IL-6 e TNF- α) foi
210 elevada e a de VEGF reduzida. A melatonina exógena mostrou ser uma
211 alternativa terapêutica eficaz, apresentando vários efeitos antiobesogênicos
212 durante a prenhez em ratas e reduzindo os efeitos adversos causados pela
213 obesidade.

214

215 **Palavras-chave:** melatonina, obesidade, prenhez, ratas, fígado, rins, baço,
216 metabolismo.

217

218 **ABSTRACT**

219 Nowadays researchers have tried treatment strategies such as melatonin
220 to slow down the symptoms of comorbidities related to obesity, since it has
221 been associated with reduced body weight. Thus, the present study aimed to
222 evaluate metabolic, biochemical and immunohistochemical parameters in the
223 liver, as well as analyzing the interaction of melatonin with renal histophysiology
224 and the immune system in pregnant rats fed with high calorie diet with or
225 without this hormone. We used 40 pregnant rats divided in the groups (n=10): I:
226 rats subjected to the common diet (D); II: rats submitted to high calorie diet
227 (DH); III: rats submitted to high calorie diet + melatonin (0.5 mg / kg) (DH + Mel)
228 and IV: rats subjected to the common diet + melatonin (0.5 mg / kg) (D + Mel).
229 The results showed that at day 7 females of DH and DH + Mel groups showed
230 body weight gain. At 14th and 20st day, only the females from DH group
231 retained this condition. There were no differences for the solid and liquid intake,
232 in the 7th day. At 14th and 20st day, there was an increase of this parameter in
233 females of DH group. The serum levels of ALT, AST, Gamma GT, alkaline
234 phosphatase, amylase, lipase, fructosamine, total cholesterol, LDL,
235 triglycerides, HDL, glucose and insulin increased at 7th and 14th day in females
236 of DH group, with the exception of amylase levels that did not differ between
237 females of the groups (day 7) and reduced HDL and AF (day 14). In females of
238 the groups treated with melatonin, amylase levels were reduced. At 20st day,
239 the females of DH group showed the same behavior observed at 14 days.

240 However, females who received melatonin showed increased FA and HDL,
241 while the other parameters showed reduced values on the D and DH groups.
242 The amount of lipids in the liver as well as the collagen content was significantly
243 higher in females of DH group compared to other groups. In females of DH +
244 Mel group there was a significant decrease in the amount of fat and collagen. In
245 females of groups D, DH + Mel and D + Mel there were no differences in relation
246 to the amount of hepatic glycogen, differing from the females of DH group that
247 had elevated levels relative to these. It was observed that females from DH
248 group had hematological, urine and biochemical significant changes, as the
249 improve levels of urea, creatinine, glucose, bilirubin, leukocytes, and platelets,
250 and these levels normalized by administration of melatonin. Furthermore, the
251 marking of collagen and proinflammatory cytokines in spleen (IL-6 and TNF- α)
252 was elevated and reduced VEGF. Exogenous melatonin was shown to be an
253 effective alternative therapy, with various anti-obesity effects in rats during
254 pregnancy and reducing the adverse effects caused by obesity.

255

256 **Keywords:** melatonin, obesity, pregnancy, rats, liver, kidneys, spleen,
257 metabolism.

258

259

260

261

262

263

264

265

266

267

268

269

270

271

272

SUMÁRIO

Capítulos	Pág.
I	1. INTRODUÇÃO..... 21
	2. REVISÃO DE LITERATURA..... 24
	2.1. Obesidade..... 27
	2.1.1 Obesidade e Tecido Adiposo..... 27
	2.1.2. Tecido adiposo e sua função endócrina..... 29
	2.2. Dietas e gestação..... 32
	2.3. Nutrição e sistema imune..... 34
	2.4. Comorbidades associadas a obesidade..... 36
	2.4.1. Obesidade, lesões hepáticas e renais..... 37
	2.4.2. Obesidade e danos oxidativos..... 39
	2.5. Síntese e ação melatonina..... 41
	2.6. Melatonina e sistema imunológico..... 44
	2.7 Melatonina e propriedades antioxidantes..... 46
	2.8 Melatonina e tecido adiposo..... 47
	3. REFERÊNCIAS..... 48
II	Parâmetros metabólicos, bioquímicos e histoquímico do fígado em ratas alimentadas com dieta hipercalórica associada ou não a melatonina durante a prenhez 63
	RESUMO..... 64
	ABSTRACT..... 65
	INTRODUÇÃO..... 66
	MATERIAIS E MÉTODOS..... 67
	RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 71
	CONCLUSÃO..... 81
	REFERÊNCIAS..... 82

III	Administração da melatonina exógena associada a uma dieta hipercalórica em ratas prenhes pode prevenir danos na histofisiologia renal e do baço	97
	RESUMO.....	98
	ABSTRACT.....	99
	INTRODUÇÃO.....	100
	MATERIAIS E MÉTODOS.....	102
	RESULTADOS.....	108
	DISCUSSÃO.....	111
	CONCLUSÃO.....	119
	REFERÊNCIAS.....	120

274
275
276
277
278
279
280
281
282
283
284
285
286
287
288
289
290
291
292
293
294
295
296
297
298
299
300
301
302
303
304

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

305
306

307 **5-HTP** (5-hidroxitriptofano)

308 **AG** (ácidos graxos)

309 **AgRP** (proteína relacionada ao Agouti)

310 **ALT** (alanina transaminase)

311 **AMPc** (adenosinamonofosfato cíclico)

312 **AST** (aspartato transaminase)

313 **ATP** (adenosina tri-fosfato)

314 **BSA** (albumina sérica bovina)

315 **CART** (transcritos relacionados a anfetamina e cocaína)

316 **CFMV** (conselho federal de medicina veterinária)

317 **CHCM** (concentração de hemoglobina corpuscular média)

318 **CIP P-450** (citocromo P-450)

319 **COX-2** (ciclooxigenase 2)

320 **D** (dieta comum)

321 **DH** (dieta hipercalórica)

322 **EDTA** (ácido etilenodiamino tetra-acético)

323 **ERN** (espécies reativas de nitrogênio)

324 **EROs** (espécies reativas de oxigênio)

325 **FA** (fosfatase alcalina)

326 **GAMA GT** (gama glutamil transferase)

327 **GLUT 4** (transportador de glicose tipo 4 regulado por insulina)

328 **GSH** (glutathiona reduzida)

329 **H₂O₂** (peróxido de hidrogênio)

330 **H₃PO₄** (ácido fosfórico)

331 **HCT** (hematócrito)

332 **HDL** (lipoproteína de alta densidade)

333 **HF** (high fat)

334 **HGB** (hemoglobina)

335 **HIOMT** (hidroxiindol O metil transferase)

336 **HOCl** (ácido hipocloroso)

337 **IBGE** (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística)

338 **I-CAM -1** (molécula de adesão intercelular 1)

339 **IL -1** (Interleucina 1)
340 **IL-1 β** (interleucina 1 beta)
341 **IL-10** (interleucina 10)
342 **IL-6** (interleucina 6)
343 **IMC** (índice de massa corporal)
344 **iNOS** (óxido nítrico sintase)
345 **IR** (insuficiência renal)
346 **IRS-1** (receptor de insulina-1)
347 **KCl** (cloreto de potássio)
348 **LDL** (lipoproteína de baixa densidade)
349 **LPL** (lipase lipoprotéica)
350 **MCP-1** (proteína quimioatrativa de monócitos)
351 **MDA** (malondialdeído)
352 **MEL** (melatonina)
353 **MT1** (receptor de melatonina tipo 1)
354 **MT2** (receptor de melatonina tipo 2)
355 **MT3** (receptor de melatonina tipo 3)
356 **NAFLD** (doença do fígado gorduroso não alcoólico)
357 **NAS** (N-acetilserotonina)
358 **NASH** (esteato-hepatite não-alcoólica)
359 **NAT** (N-acetil transferase)
360 **NF- $\kappa\beta$** (fator nuclear kappa beta)
361 **NK** (natural killers)
362 **NO** (óxido nítrico)
363 **NO²⁻** (nitrito)
364 **NPY** (neuropeptídeo Y)
365 **NQO2** (quinonaredutase II)
366 **NSQ** (núcleo supraquiasmático)
367 **OCT** (Optimal Cristal Temperature)
368 **OMS** (Organização Mundial de Saúde)
369 **ONOO-** (peroxinitrito)
370 **PAHO** (Pan American Health Organization)
371 **PAI -1** (inibidor do ativador de plasminogênio)
372 **PBS** (phosphate buffer solution)

373 **PCR** (proteína C reativa)
374 **PLGF** (fator de crescimento placentário)
375 **PLT** (plaquetas)
376 **POMC** (pró-opio-melacortina)
377 **PPT** (proteínas plasmáticas totais)
378 **RELM** (Resistin-LikeMolecules)
379 **RNS** (espécies reativas de nitrogênio)
380 **ROS** (espécies reativas de oxigênio)
381 **SM** (síndrome metabólica)
382 **SREBP-1** (fator transcricional 1)
383 **TAB** (tecido adiposo branco)
384 **TAG** (triacilglicerol)
385 **TAM** (tecido adiposo marrom)
386 **TBARS** (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico)
387 **TGF- α** (fator alfa de crescimento transformante)
388 **TGF- β** (fator beta de crescimento transformante)
389 **TH** (triptofanohidroxilase)
390 **TLR-2** (toll like receptor 2)
391 **TNF- α** (fator alfa de necrose tumoral)
392 **TRL-4** (toll like receptor 4)
393 **UCP-1** (proteína desacopladora 1)
394 **V-CAM-1** (molécula de adesão de células vasculares 1)
395 **VCM** (volume corpuscular médio)
396 **VEGF** (fator de crescimento endotelial vascular)
397 **VLDL** (lipoproteína de muito baixa densidade)
398
399
400
401
402
403
404
405

LISTA DE FIGURAS

406

407

408 **Capítulo II**

409

410 **Figura 1:** Ganho de peso A (7dias), B(14 dias) e C (20 dias); Ingesta Sólida D
411 (7dias), E (14 dias) e F (20 dias) e Ingesta Líquida G (7dias) H (14 dias) e I (20
412 dias). Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo com
413 o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ($P<0,05$).91

414

415 **Figura 2:** Fotomicrografia de fígado corados pelo OIL RED O. A: Dieta Comum,
416 B: Dieta Hipercalórica, C: Dieta Comum + Melatonina e D: Dieta Comum +
417 Melatonina.94

418

419 **Figura 3:** Quantificação de lipídios hepáticos por coloração OIL RED O. Médias
420 seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de
421 ANOVA seguido pelo pos hoc de Tukey ($P<0,05$).....94

422

423 **Figura 4:** Fotomicrografia de fígado mostrando fibras colágenas coradas por
424 Sirius Red. A: Dieta Comum, B: Dieta Hipercalórica, C: Dieta Comum +
425 Melatonina e D: Dieta Comum + Melatonina.....95

426

427 **Figura 5:** Quantificação de fibras colágenas hepáticas. Coloração Sirius Red.
428 Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo
429 teste de ANOVA seguido pelo pos hoc de Tukey ($P<0,05$).....95

430

431 **Figura 6:** Fotomicrografia de fígado evidenciando glicogênio corado pelo Ácido
432 Periódico de Schiff. A: Dieta Comum, B: Dieta Hipercalórica, C: Dieta Comum +
433 Melatonina e D: Dieta Comum + Melatonina.....96

434

435 **Figura 7:** Quantificação de glicogênio hepático. Coloração Ácido Periódico de
436 Schiff. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre
437 si pelo teste de ANOVA seguido pelo pos hoc de Tukey ($P<0,05$).....96

438

439 **Capítulo III**

440

441 **Figura 1.** Fotomicrografia das fibras colágenas nos rins das fêmeas dos grupos
442 experimentais. Coloração por Sirius Red. A: Dieta Comum, B: Dieta
443 Hipercalórica, C: Dieta Comum + Melatonina e D: Dieta Comum +
444 Melatonina.....127

445

446 **Figura 2.** Quantificação de fibras colágenas nos rins das fêmeas dos grupos
447 experimentais. Coloração Sirius Red. Médias seguidas pela mesma letra não
448 diferem significativamente entre si pelo teste de ANOVA seguido pelo pos hoc
449 de Tukey ($P < 0,05$).....127

450

451 **Figura 3.** Fotomicrografia das fibras colágenas no baço das fêmeas dos grupos
452 experimentais. Coloração por Sirius Red. A: Dieta Comum, B: Dieta
453 Hipercalórica, C: Dieta Comum + Melatonina e D: Dieta Comum +
454 Melatonina.....128

455

456 **Figura 4.** Quantificação de fibras colágenas no baço das fêmeas dos grupos
457 experimentais. Coloração Sirius Red. Médias seguidas pela mesma letra não
458 diferem significativamente entre si pelo teste de ANOVA seguido pelo pos hoc
459 de Tukey ($P < 0,05$).....128

460

461 **Figura 5.** Fotomicrografia do baço das fêmeas dos grupos experimentais.
462 Imunohistoquímica para IL-6. A: Dieta Comum, B: Dieta Hipercalórica, C: Dieta
463 Comum + Melatonina e D: Dieta Comum + Melatonina.....129

464

465 **Figura 6.** Quantificação de IL-6 no baço. Médias seguidas pela mesma letra
466 não diferem significativamente entre si pelo teste de ANOVA seguido pelo pos
467 hoc de Tukey ($P < 0,05$).....129

468

469 **Figura 7.** Fotomicrografia do baço das fêmeas dos grupos experimentais.
470 Imunohistoquímica para TNF - α . A: Dieta Comum, B: Dieta Hipercalórica, C:
471 Dieta Comum + Melatonina e D: Dieta Comum + Melatonina.....130

472	Figura 8. Quantificação de TNF - α no baço. Médias seguidas pela mesma	
473	letra não diferem significativamente entre si pelo teste de ANOVA seguido pelo	
474	pos hoc de Tukey ($P < 0,05$).....	130
475		
476	Figura 9. Fotomicrografia da região cortical dos rins das fêmeas dos grupos	
477	experimentais. Imunohistoquímica para VEGF. A: Dieta Comum, B: Dieta	
478	Hipercalórica, C: Dieta Comum + Melatonina e D: Dieta Comum +	
479	Melatonina.....	131
480		
481	Figura 10. Quantificação de VEGF na região cortical dos rins. Médias seguidas	
482	pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de ANOVA	
483	seguido pelo pos hoc de Tukey ($P < 0,05$).....	131
484		
485	Figura 11. Fotomicrografia da região medular dos rins das fêmeas dos grupos	
486	experimentais. Imunohistoquímica para VEGF. A: Dieta Comum, B: Dieta	
487	Hipercalórica, C: Dieta Comum + Melatonina e D: Dieta Comum +	
488	Melatonina.....	132
489		
490	Figura 12. Quantificação de VEGF na região medular dos rins. Médias	
491	seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de	
492	ANOVA seguido pelo pos hoc de Tukey ($P < 0,05$).....	132
493		
494	Figura 13. Quantificação de estresse oxidativo nas fêmeas dos grupos	
495	experimentais. A: 14° dia de prenhez; B: 20° dia de prenhez. Médias seguidas	
496	pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de ANOVA	
497	seguido pelo pos hoc de Tukey ($P < 0,05$).....	138
498		
499	Figura 14. Quantificação de GSH nos rins das fêmeas dos grupos	
500	experimentais. Médias seguidas pela mesma letra não diferem	
501	significativamente entre si pelo teste de ANOVA seguido pelo pos hoc de Tukey	
502	($P < 0,05$).....	138
503		
504	Figura 15. Quantificação de TBARS nos rins das fêmeas dos grupos	
505	experimentais. Médias seguidas pela mesma letra não diferem	

506 significativamente entre si pelo teste de ANOVA seguido pelo pos hoc de Tukey
507 (P<0,05).....139

508

509

510

511

512

513

514

515

516

517

518

519

520

521

522

523

524

525

526

527

528

529

530

531

532

533

534

535

536

537

538

539

540 **LISTA DE TABELAS**

541

542 **Capítulo II**

543

544 **Tabela 1.** Dieta HF Integral 60% 5205 cal/Kg - Peletes mais macios.....68

545

546 **Tabela 2.** Dieta Controle Integral.....68

547

548 **Tabela 3.** Bioquímica das matrizes ao 7° dia de prenhez.....92

549

550 **Tabela 4.** Bioquímica das matrizes ao 14° dia de prenhez.....92

551

552 **Tabela 5.** Bioquímica das matrizes ao 20° dia de prenhez.....92

553

554 **Capítulo III**

555

556 **Tabela 1.** Dieta HF Integral 60% 5205 cal/Kg - Peletes mais macios.....103

557

558 **Tabela 2.** Dieta Controle Integral.....104

559

560 **Tabela 3.** Médias da análise química urinária das fêmeas dos grupos
561 experimentais ao 7° dia de prenhez.....133

562

563 **Tabela 4.** Médias da análise química urinária das fêmeas dos grupos
564 experimentais ao 14° dia de prenhez.....133

565

566 **Tabela 5.** Médias da análise química urinária das fêmeas dos grupos
567 experimentais ao 20° dia de prenhez.....134

568

569 **Tabela 6.** Valores médios de leucócitos, eritrócitos, hemoglobina (HGB),
570 hematócrito (HCT), volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular
571 média (CHCM), plaquetas (PLT) e proteínas plasmáticas totais (PPT) das
572 fêmeas dos grupos experimentais ao 7° dia de prenhez.....134

573	Tabela 7. Valores médios de leucócitos, eritrócitos, hemoglobina (HGB),	
574	hematócrito (HCT), volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular	
575	média (CHCM), plaquetas (PLT) e proteínas plasmáticas totais (PPT) das	
576	fêmeas dos grupos experimentais ao 14° dia de prenhez.....	135
577		
578	Tabela 8. Valores médios de leucócitos, eritrócitos, hemoglobina (HGB),	
579	hematócrito (HCT), volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular	
580	média (CHCM), plaquetas (PLT) e proteínas plasmáticas totais (PPT) das	
581	fêmeas dos grupos experimentais ao 20° dia de prenhez.....	135
582		
583	Tabela 9. Médias da contagem diferencial dos leucócitos das fêmeas ao 7° dia	
584	de prenhez.....	136
585		
586	Tabela 10. Médias da contagem diferencial dos leucócitos das fêmeas ao 14°	
587	dia de prenhez.....	136
588		
589	Tabela 11. Médias da contagem diferencial dos leucócitos das fêmeas ao 20°	
590	dia de prenhez.....	136
591		
592	Tabela 12. Bioquímica das fêmeas ao 7° dia de prenhez.....	137
593		
594	Tabela 13. Bioquímica das fêmeas ao 14° dia de prenhez.....	137
595		
596	Tabela 14. Bioquímica das fêmeas ao 20° dia de prenhez.....	137

CAPÍTULO I

597
598
599

1. INTRODUÇÃO

600

601 A ingestão excessiva de gorduras favorece o aparecimento de
602 comorbidades como a hipertensão arterial, o diabetes mellitus, as
603 hiperlipidemias e as doenças cardiovasculares (FEOLI et al., 2003). Estudos
604 realizados por Nascimento et al. (2008), utilizando um modelo de dieta
605 hipercalórica mostraram que a dieta promoveu a obesidade em ratos Wistar e
606 foram exibidas várias características comumente associadas com a obesidade
607 humana, incluindo pressão arterial alta, a resistência à insulina, hiperglicemia,
608 hiperinsulinemia, hiperleptinemia e dislipidemia. Além da relação entre gordura,
609 peso corporal e lipoproteínas, os lipídios também interferem na susceptibilidade
610 de um organismo a danos oxidativos. Esses danos são gerados pela instalação
611 do estresse oxidativo (DANTAS, 2007).

612

613 Outra questão importante diz respeito ao desenvolvimento fetal quando
614 mães são consumidoras ativas deste tipo de dieta. Há evidências de que a má-
615 nutrição intra-uterina pode “programar” os tecidos fetais de maneira a torná-los
616 mais vulneráveis a desordens relacionadas à alimentação tais como diabetes
617 tipo 2, síndrome metabólica e doenças crônico-degenerativas na idade adulta
618 (HALES; BARKER, 2001). Segundo Bouanane et al. (2010) a ingestão materna
619 de gordura contribui para o desenvolvimento de esteatose hepática, além da
620 ativação da lipogênese hepática, pela redução da oxidação hepática de ácidos
621 graxos.

621

622 A alimentação materna e a obesidade também influenciam negativamente
623 no desenvolvimento renal, pois a dieta excessivamente rica em gordura e
624 ácidos graxos saturados é capaz de induzir a resistência à insulina, levando à
625 lipólise e hiperinsulinismo (SIMEONI; BARKER, 2009). Durante a nefrogênese,
626 a resistência à insulina e excesso de glicose intracelular induz hipóxia e
627 estresse oxidativo, que resulta em alterações patológicas na expressão gênica,
628 aumentando a produção de citocinas inflamatórias e fatores de transcrição,
629 levando a apoptose celular (REIS et al., 2008). Sabe-se que a exposição a um
630 ambiente intrauterino anormal desempenha um papel importante na
631 predisposição do feto para o desenvolvimento de diversas doenças

631 metabólicas (CHECHI; HERZBERG; CHEEMA, 2010). Estudos experimentais
632 que investigam a programação neonatal e doenças metabólicas em adultos
633 têm se concentrado principalmente nos efeitos da restrição calórica ou protéica,
634 cujos efeitos descritos na literatura passam por alterações no desenvolvimento
635 somático, no consumo alimentar e alterações metabólicas (BARRETO-
636 MEDEIROS et al., 2007). A presença de doenças como a obesidade, e
637 consumo de dietas ricas em gorduras e/ou diabetes gestacional também tem
638 sido foco desse tipo de trabalho (ZHIXIONG et al., 2009).

639 Hoje, a temática dedicada à identificação de fatores maternos alterando a
640 programação metabólica da prole chama-se programming (BAGBY, 2007).
641 Esse período, que vai da concepção ao nascimento – caracterizado por rápido
642 crescimento, replicação e diferenciação celular – é bastante sensível (PISANI
643 et al., 2008). A teoria é que uma combinação de mecanismos age em nível de
644 órgãos, tecidos, células e moléculas (SIMEONI; BARKER, 2009).

645 Acredita-se que dietas hiperlipídicas conduzam a hiperfagia, ou causem
646 efeitos metabólicos independentemente desta (WEST; YORK, 1998) como
647 redução na secreção de leptina (AINSLIE et al., 2000) ou limitação na sua
648 capacidade de atuação (FREDERICH et al., 1995). A leptina é uma proteína
649 circulante produzida, proporcionalmente, pela massa de tecido adiposo e age
650 no sistema nervoso aumentando a saciedade (PELLEYMOUNTER et al., 1995)
651 e conseqüentemente diminuindo a ingestão de alimentos.

652 A melatonina, produto hormonal da glândula pineal, tem sido
653 recentemente implicada com a função do tecido adiposo, melhorando a
654 sensibilidade a insulina. (LIMA et al., 1998). Em um estudo realizado por Borges
655 et al. (2005) o conteúdo plasmático de leptina mostrou-se significativamente
656 reduzido em animais pinealectomizados. Em outro trabalho realizado por
657 Alonso - Vale et al. (2004), foi investigado as respostas adaptativas ao jejum de
658 36 h em animais pinealectomizados. A pinealectomia intensificou a atividade do
659 eixo hipotálamo-hipófise-adrenal de forma a elevar consideravelmente a
660 corticosteronemia, além de induzir queda importante da leptina plasmática.

661 O hormônio melatonina tem efeitos atenuadores da lesão celular induzida
662 por radicais livres, devido à sua capacidade de reagir com radicais hidroxila
663 (OH⁻) para formar (in vitro e in vivo) a 3-hidroximelatonina cíclica (3-OHM),

664 metabólito estável da melatonina (KARBOWNIK; REITER, 2000). A melatonina
665 é considerada um dos mais poderosos agentes anti-oxidantes naturais (TAN et
666 al., 2002). Distintos trabalhos demonstram que a melatonina tem um papel no
667 gasto energético, no ritmo circadiano da glicemia, na regulação da massa
668 corporal e sobre a secreção e ação da insulina periférica (LIMA et al., 1998;
669 PICINATO et al., 2002).

670 Estudos anteriores mostraram que durante o processo de envelhecimento
671 normal tanto em humanos, como em ratos, há uma correlação entre uma maior
672 adiposidade visceral e diminuição dos níveis de melatonina (BJÖRNTORP,
673 1995). Rasmussen et al. (2001) demonstraram que a administração diária de
674 melatonina em ratos machos de meia-idade alimentados com dieta
675 hipercalórica, diminuiu o peso corporal, suprimiu a deposição de gordura
676 visceral e restabeleceu os níveis plasmáticos normais de leptina e insulina.

677 Compreender o impacto da obesidade materna e super-nutrição está
678 sendo considerado atualmente como de grande importância, pois há uma
679 correlação positiva entre o índice de massa corporal materno (IMC) durante a
680 gravidez e o risco de obesidade na prole na vida adulta (PIRKOLA et al., 2010).
681 Isto pode sugerir que super-nutrição materna seja um fator de programação
682 para doenças futuras, semelhantemente às provocadas pela sub-nutrição
683 (SAMUELSSON et al, 2008). No entanto, não há relatos na literatura sobre os
684 possíveis efeitos benéficos da melatonina sobre fêmeas prenhes obesas, em
685 decorrência de um desequilíbrio alimentar durante a prenhez. Assim, a
686 presente pesquisa teve o objetivo de investigar os efeitos do consumo de uma
687 dieta hipercalórica associada ou não a melatonina sobre a histoquímica do
688 fígado, rins e baço, bem como sobre parâmetros sanguíneos, bioquímicos,
689 metabólicos e inflamatórios em fêmeas prenhes.

690

691

692

693

694

695

696

697 2. REVISÃO DE LITERATURA

698

699 2.1 OBESIDADE

700

701 A obesidade é definida como uma condição de acúmulo anormal ou
702 excessivo de gordura no tecido adiposo, até níveis que podem trazer
703 transtornos à saúde. O seu desenvolvimento resulta não apenas da hipertrofia,
704 mas da hiperplasia dos adipócitos, onde o aumento do tamanho de tais células
705 não é um processo ilimitado, eventualmente, seu crescimento atinge um grau
706 máximo, e novas células são lentamente recrutadas para o tecido
707 (DEFRONZO, 2004). O excesso de gordura resulta, portanto, de sucessivos
708 balanços energéticos positivos, em que a quantidade de energia ingerida é
709 superior à quantidade de energia dispendida (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE
710 SAÚDE, 2004).

711 Trata-se de uma doença de proporções epidêmicas sendo considerada
712 como um dos principais problemas de saúde pública. Atualmente cerca de 1,6
713 bilhões de adultos são considerados com sobrepeso e 400 milhões, obesos
714 (PÊGO-FERNANDES, BIBAS, DEBONI, 2011). Projeções da Organização
715 Mundial de Saúde (OMS) indicam que em 2025, esse número aumentará
716 consideravelmente, com cerca de 2,3 bilhões de adultos com sobrepeso, e
717 mais de 700 milhões obesos (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2004).

718 No Brasil, estima-se que cerca de 50% da população esteja acima do
719 peso, ou seja, na faixa de sobrepeso e obesidade. Em um último levantamento
720 oficial realizado pelo IBGE entre 2008/2009, a prevalência de tal condição
721 cresceu continuamente. Em adultos, a taxa de sobrepeso aumentou cerca de
722 três vezes no sexo masculino (de 18,5% para 50,1%) e cerca de duas vezes no
723 sexo feminino (de 28,7% para 48,0%). No mesmo período, a prevalência da
724 obesidade aumentou em mais de quatro vezes para homens (de 2,8% para
725 12,4%) e em mais de duas vezes para mulheres (de 8,0% para 16,9%) (IBGE,
726 2010; VIGITEL, 2011).

727 A distribuição geográfica dos indivíduos portadores desse excesso de
728 peso e obesidade é dependente de condições que geralmente podem estar
729 associadas a diversas características, tais como; idade, sexo, situações

730 socioeconômicas como a renda familiar e a escolaridade, além de fatores de
731 riscos relacionados à saúde. Todos estes aspectos influenciam diretamente os
732 percentuais característicos de crianças e adultos (com faixas etárias distintas)
733 observados nas diferentes regiões do Brasil (JOHNSON et al., 2012; IBGE
734 2010) (Fig. 1)
735



736
737 **Figura 1:** Mapa da distribuição do excesso de peso e obesidade em
738 diferentes faixas etárias e regiões do país (Foto adaptada da Associação
739 Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica (ABESO),
740 tendo como base o POF 2008-2009).

741
742 A obesidade é classificada baseando-se no índice de massa corporal
743 (IMC), que é calculado pela razão entre o peso em quilogramas, dividido pela
744 altura em metros quadrados ($IMC = \text{Kg}/\text{altura}^2$), e também pelo risco de
745 comorbidades associadas, em tipos I, II e III (WHO, 1995), sendo caracterizada
746 quando o IMC encontra-se acima de $30\text{Kg}/\text{m}^2$ (Tab. 1). Apesar de ser utilizado
747 pela OMS, são necessários outros indicadores que complementem a medição
748 do IMC. As medidas de obesidade central, circunferência da cintura, e razão

749 cintura-quadril trazem definições mais exatas da distribuição de gordura
750 corporal, sendo tais medidas mais relacionadas à comorbidades e mortalidade
751 subsequente (HUXLEY et al., 2010).

752

753 **Tabela 1.** Classificação da obesidade em função do IMC e riscos de
754 comorbidades.

755

Classificação	IMC (Kg/m²)	Riscos de Comorbidades
Baixo peso	< 18.5	Baixo
Variação Normal	18.5-24.9	Médio
Pré-obesidade	25.0-29.9	Aumentado
Obesidade classe I	30,0 - 34,9	Moderado
Obesidade classe II	35.0-39.9	Grave
Obesidade classe III	≥ 40.0	Muito grave

756 Fonte: adaptada da OMS, 2000.

757

758 São inúmeras as causas que podem levar ao desenvolvimento desta
759 enfermidade. A facilidade de acesso e o baixo custo de alimentos altamente
760 palatáveis e de grande densidade calórica, aliados ao menor requerimento de
761 atividades físicas na vida diária, fizeram com que a prevalência da obesidade
762 aumentasse em proporções alarmantes (SWINBURN et al., 2011). Fatores
763 genéticos também participam desse processo, porém acredita-se que apenas
764 este não pode ser considerado como um fator conclusivo ao desenvolvimento
765 da obesidade, uma vez que a carga genética humana não mudou tão
766 drasticamente no curto período de tempo em que a obesidade se difundiu.

767 Outros fatores como distúrbios fisiológicos, metabólicos e psicológicos
768 também parecem influenciar e, além disso, modificações no estilo de vida com
769 o aumento do consumo de alimentos industrializados, ricos em gorduras e
770 açúcares contribuíram grandiosamente para o desenvolvimento dessa
771 patologia.

772

773

774

2.1.1. *Obesidade e Tecido Adiposo*

As células adiposas se originam no embrião, a partir de células derivadas do mesênquima, os lipoblastos. São semelhantes a fibroblastos, porém logo acumulam gordura no seu citoplasma. O tecido adiposo (TA) é um tipo especial de tecido conjuntivo onde se observa a predominância de células adiposas (adipócitos). Estas células podem ser encontradas isoladas ou em pequenos grupos no tecido conjuntivo comum, porém a maioria delas se agrupa no tecido adiposo espalhado pelo corpo. Este tecido é o maior depósito de energia (sob forma de triglicerídeos) do organismo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Os adipócitos são as únicas células capazes de armazenar lipídios na forma de triacilglicerol (TAG). Essas células possuem todas as enzimas necessárias para realização de lipogênese (síntese de ácidos graxos) e para estocar TAG quando a oferta energética é alta, bem como para mobilizá-lo quando ocorre escassez de energia (AHIMA; FLIER, 2000). As células hepáticas e o músculo esquelético também acumulam energia, mas sobre a forma de glicogênio. Os triglicerídeos são mais eficientes como reserva de energia porque fornecem 9,3 kcal/ g contra apenas 4,1 kcal/ g do glicogênio.

Outra função do tecido adiposo é que ele absorve choques, principalmente na planta dos pés e na palma das mãos. Como as gorduras são condutoras de calor, esse tecido contribui para o isolamento térmico do organismo. Além disso, preenche espaços entre outros tecidos e auxilia a manter certos órgãos em suas posições normais (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Além dos adipócitos, o TA ou unilocular possui uma matriz de tecido conjuntivo (fibras colágenas e reticulares), nervos, vasos sanguíneos, nódulos linfáticos, células imunes, fibroblastos e pré-adipócitos (AHIMA; FLIER, 2000). Nos mamíferos existem dois tipos de TA: o tecido adiposo branco ou unilocular (TAB) e o tecido adiposo marrom ou multilocular (TAM). O TAM ou multilocular é formado por adipócitos caracterizados pela presença de várias gotículas lipídicas citoplasmáticas de tamanhos diferentes, núcleo esférico e excêntrico. Apresenta mitocôndrias que não sintetizam ATP, utilizando a energia liberada pela oxidação de ácidos graxos (AG) para gerar calor (CANNON;

808 NEDERGAARD, 2004). Ao ser estimulado pela liberação de noradrenalina nas
809 terminações nervosas abundantes em torno das suas células, o tecido adiposo
810 multilocular acelera sua lipólise e oxidação dos AG. A oxidação dos AG produz
811 calor e não ATP, porque as mitocôndrias do tecido multilocular apresentam nas
812 suas membranas internas, uma proteína transmembrana chamada
813 termogenina, também conhecida como proteína desacopladora-1 (UCP-1).
814 Esta proteína permite a volta para a matriz mitocondrial dos prótons
815 transportados para o espaço intermembranoso sem que eles passem pelo
816 sistema de ATP sintetase existente nos corpúsculos elementares das
817 mitocôndrias. Em consequência, a energia gerada pelo fluxo de prótons não é
818 usada para sintetizar ATP, sendo dissipada como calor (LANGIN, 2010;
819 JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

820 O TAB, por sua vez, armazena os TAGs em uma única e grande gota
821 lipídica que ocupa de 85-90% do citoplasma e empurra o núcleo e uma fina
822 camada de citosol para a periferia da célula (FONSECA-ALANIZ, et.al., 2006).
823 O armazenamento de lipídios e a sua incorporação em TAG dependem da
824 captação de ácidos graxos (AG) contidos nos quilomícrons oriundos do fígado.
825 Estes são transportados até o tecido adiposo onde sofrem a ação da enzima
826 lipase de lipoproteínas que os degrada, liberando três moléculas de AG e uma
827 de glicerol que são transferidas para o tecido adiposo constituindo seus
828 triglicerídeos (DE FARIAS, 2010). As células adiposas também sintetizam
829 triglicerídeos a partir do AcetilCoA proveniente da glicose (KATZUNG.;
830 MASTERS; TREVOR, 2014). Smith et al. (2000) demonstrou correlação
831 positiva entre a concentração de insulina e o balanço lipídico durante ingestão
832 de dieta rica em lipídio e baixa em carboidrato por indivíduos normais e é bem
833 documentado que o aumento da liberação de insulina estimula a lipogênese
834 (DE FARIAS, 2010).

835 Por apresentar diversas características, o tecido adiposo apresenta
836 variadas funções, como auxiliar no isolamento térmico do organismo (na
837 manutenção da temperatura corporal), servir como uma reserva energética
838 além de atuar como amortecedor, protegendo o organismo contra choques
839 mecânicos. Entretanto, o TAB também produz várias substâncias com efeitos
840 biológicos, estabelecendo uma atividade endócrina desse tecido.

2.1.2. Tecido adiposo e sua função endócrina

Ao longo dos anos foram desenvolvidas novas pesquisas a respeito do tecido adiposo, evidenciando sua função endócrina. Durante a diferenciação dos pré-adipócitos em adipócitos maduros, ocorre um processo em que esses adipócitos adquirem a capacidade de produção de centenas de proteínas: enzimas, citocinas, fatores de crescimento e hormônios, que estão envolvidas em diversos eventos metabólicos. Hoje em dia as chamadas adipocinas incluem: TNF-alfa, IL-6, inibidor do ativador de plasminogênio (PAI) -1, angiotensinogênio, proteína C-reativa (PCR), entre outras. Algumas possuem ação protetora contra inflamação vascular e resistência insulínica, dentre as quais, figuram a adiponectina e o óxido nítrico (GOMES et al., 2010). Outras como a leptina, adiponectina, visfatina e resistina atuam como hormônios na homeostasia da glicose e na regulação do apetite e/ou como citocinas, promovendo uma ligação entre obesidade, resistência à insulina, sistema imune e processo inflamatório (LAGO et al., 2007). Atualmente, mais de 50 adipocinas já foram identificadas (TRAYHURN; WOOD, 2004) (Figura 2).

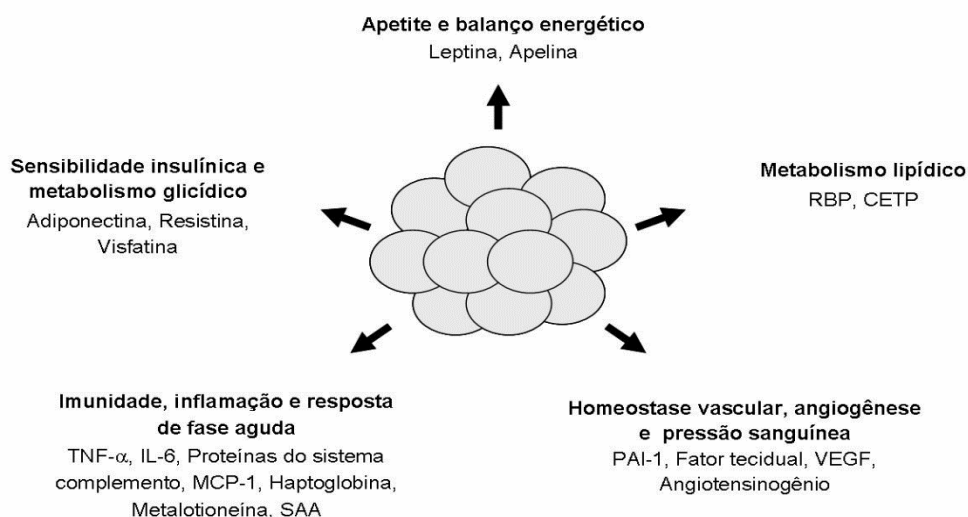


Figura 2. Principais adipocinas e suas categorias funcionais. (Fonte: LEITE; ROCHA; BRANDÃO-NETO, 2009).

865 A Leptina é um hormônio peptídeo composto por 167 aminoácidos,
866 expressa principalmente pelo TAB, mas também pelo estômago, glândulas
867 mamárias e placenta. É oriunda do gene “ob” em resposta ao consumo
868 alimentar, desencadeando um sinal anorexígeno em resposta ao aumento de
869 suas concentrações plasmáticas. Estudos apontam que a administração de
870 leptina em ratos induz uma menor expressão de neuropeptídeos ligados ao
871 aumento do consumo alimentar. Em contrapartida, o jejum diminui as
872 concentrações plasmáticas de leptina, aumentando o consumo de alimentos
873 (LORENZETI et al., 2011). É considerado um agente controlador do peso
874 corporal, pois transmite ao hipotálamo informações a respeito da quantidade de
875 energia armazenada no tecido adiposo (SOUZA; BRAZ-SILVA; LEITE-
876 MOREIRA, 2009). Este hormônio inibe, no núcleo arqueado do hipotálamo, a
877 produção de dois potentes orexígenos: Neuropeptídeo Y (NPY) e a proteína
878 relacionada ao Agouti (AgRP), neurônios estimuladores da ingestão alimentar.
879 Outra subpopulação neuronal expressa pró-opio-melancortina (POMC) e
880 transcritos relacionados a anfetamina e cocaína (CART), ambos com função
881 anoréxica. Esses dois grupos de neurônios presentes no hipotálamo funcionam
882 como um sistema de “acelerador-freio” para a ingestão de alimentos, e ambos
883 são controlados pela leptina (DAMIANI; DAMIANI; MENEZES FILHO, 2010).

884 A leptina aumenta o gasto energético pela ativação da atividade nervosa
885 simpática no tecido adiposo marrom termogênico. Foi também demonstrado
886 que este hormônio gera excitação simpática no rim que, por sua vez, aumenta
887 a pressão arterial (SILVA et al.,2009). Entretanto, segundo Lopes (2007), a
888 leptina atua diretamente nesse órgão, aumentando a excreção de sódio e a
889 produção de óxido nítrico, o que pode resultar na queda da pressão arterial. A
890 maioria dos indivíduos obesos apresenta hiperleptinemia, e o tratamento com
891 leptina, é ineficaz, indicando a resistência a ação desse hormônio
892 (HUKSHORN et al.,2000), porém não se sabe como essa resistência se
893 desenvolve.

894 A adiponectina é uma proteína globular composta por 244 aminoácidos
895 que formam um trímero e se polimerizam formando um grande polímero.
896 Possui receptores no músculo esquelético, fígado, coração e artérias. Está
897 diminuída no sangue em casos de obesidade visceral e naqueles com

898 resistência à insulina, bem como na esteatose hepática não alcoólica e no
899 diabetes mellitus tipo 2. Animais obesos tratados com adiponectina diminuem a
900 hiperglicemia e nível de lipemia e melhoram a sensibilidade à insulina.
901 Portanto, admite-se uma atividade de proteção contra a resistência à insulina e
902 um efeito antidiabético (BERG; COMBS; SCHERER, 2002). É capaz de
903 aumentar a captação de glicose e oxidação de gordura no músculo, reduzir a
904 produção de glicose hepática, e melhorar a sensibilidade à insulina.
905 Interessantemente, as concentrações de adiponectina encontram-se reduzidas
906 em indivíduos obesos (RABE et al., 2008). A adiponectina também apresenta
907 efeitos anti-aterogênicos por inibir a adesão de monócitos, a transformação de
908 macrófagos em células “espumosas” ou “foamcells” e a ativação de células
909 endoteliais (RONTI et al., 2006).

910 A visfatina é uma adipocina predominantemente sintetizada por
911 leucócitos, incluindo macrófagos que infiltram o tecido adiposo visceral, em
912 resposta a sinais inflamatórios. Influencia fenômenos ateroscleróticos e a
913 secreção de insulina. Favorece as vias da inflamação, ao promover o aumento
914 da síntese de citocinas pró-inflamatórias pelos monócitos, tais como IL-6 e
915 TNF-alfa, estando significativamente aumentada em indivíduos obesos (TILG;
916 MOSCHEN, 2008).

917 A resistina pertence à família RELM (Resistin-Like Molecules) de
918 proteínas ricas em cistina. Ela foi primeiramente descrita em roedores,
919 apresentando associação direta com obesidade e diabetes. Seus mecanismos
920 de ação ainda não são totalmente elucidados, embora se saiba que ela atue no
921 coração, no fígado e nos tecidos muscular e adiposo (STEPPAN, et.al., 2001).

922 A interleucina 6 (IL-6) é secretada por macrófagos e adipócitos e sua
923 expressão pode ser estimulada pelas catecolaminas via receptores
924 adrenérgicos β_2 e β_3 do TAB, quando em concentrações elevadas. Possui
925 efeito pró-inflamatório e ação no metabolismo de carboidratos e lipídios
926 (FONSECA-ALANIZ, et al., 2006).

927 A PCR (proteína C reativa) é produzida pelo fígado em resposta a
928 presença elevada de citocinas inflamatórias. Seus níveis mostram-se elevados
929 em obesos e recentemente níveis elevados de PCR no plasma foram
930 considerados como preditores independentes de doença arterial coronária.

931 Participa do processo de aterogênese e modula a função endotelial, além de
932 induzir a expressão de várias moléculas (ICAM-1, VCAM-1, MCP-1 e
933 selectinas). Atua como regulador da produção de óxido nítrico no endotélio e
934 coordena a produção e secreção de várias citocinas, aumentando a atividade
935 pró-inflamatória de diversas adipocinas (GOMES, et al., 2010). O Óxido Nítrico
936 é um dos controladores humorais da pressão arterial, caracterizado como
937 potente vasodilatador do endotélio (MAEDA et al., 2004).

938

939 **2.2. DIETAS E GESTAÇÃO**

940

941 Experimentalmente diversos tipos de dietas disponíveis com o intuito de
942 promover obesidade são observados. Em animais de laboratório, a gênese da
943 obesidade está relacionada, em sua maioria, a mutações genéticas, porém
944 esse modelo é muito distante do observado nos humanos (ROSINI; SILVA;
945 MORAES, 2012).

946 A adoção de dietas hipercalóricas ou dietas hiperlipídicas tem sido muito
947 utilizada como um modelo de indução de obesidade em animais de laboratório.
948 Este modelo em particular é extremamente útil nas pesquisas de obesidade em
949 animais devido a sua grande semelhança com a gênese e com as respostas
950 metabólicas decorrentes da obesidade em humanos, ou seja, a obesidade e a
951 consequência de um balanço energético positivo gerado por fatores
952 ambientais, como por exemplo, o consumo em excesso de alimentos altamente
953 calóricos e o sedentarismo (TSCHOP; HEIMAN, 2001).

954 Alguns estudos têm demonstrado a eficácia da ingestão de dietas
955 hipercalóricas ou dietas hiperlipídicas na gênese da obesidade e de suas
956 comorbidades, principalmente em porcos (REF16) e em roedores da linhagem
957 Sprague-Dawley (PETRY et al., 2000; DOBRIAN et al., 2000). Os animais da
958 linhagem Wistar também são utilizados em estudos em que a obesidade e
959 induzida por dietas, e os resultados mostram que o peso corporal encontra-se
960 aumentado. Ratos Wistar tratados com dieta hipercalórica e hiperlipídica
961 durante três meses aumentaram aproximadamente 1,4 vez a massa corporal
962 quando comparados com animais-controle (DA SILVA et al., 2010).

963 É bem sabido que a ingestão de dietas hiperlipídicas está relacionada ao
964 desenvolvimento da obesidade. Pesquisadores observaram que ácidos graxos
965 saturados de cadeia longa ligam-se a receptores do tipo Toll (TLR2 e TLR4)
966 das micróglia, células protetoras do hipotálamo, estimulando a produção de
967 citocinas pró-inflamatórias (IL-6, TNF- α , IL-1 β) e, conseqüentemente,
968 destruindo os neurônios responsáveis pelo controle do apetite e da
969 termogênese (MILANSKI et al. 2009).

970 O número de mulheres em idade reprodutiva consumidoras de dietas
971 hiperlipídicas vem aumentando consideravelmente nos últimos anos,
972 despertando interesse sobre os efeitos na saúde da prole de mães
973 consumidoras desse tipo de dieta (IBGE, 2010).

974 O ganho de peso materno em excesso pode induzir à diabetes
975 gestacional, macrossomia fetal, dificuldades no parto e hipoglicemia do recém-
976 nascido no período perinatal. Segundo a Pan American Health Organization
977 (PAHO), a saúde, crescimento e desenvolvimento do recém-nascido estão
978 relacionados com seu peso ao nascer e este é diretamente dependente do
979 estado nutricional materno antes da concepção e gestação (ACCIOLY;
980 SAUNDERS; LECERDA, 2005). Diversos estudos têm demonstrado que a
981 nutrição pré e pós natal influenciam diretamente na predisposição de doenças
982 crônicas associadas a alimentação, tais como obesidade, hipertensão e
983 doenças cardiovasculares na vida adulta (MARTIN et al., 2003).

984 Estudos em ratos demonstraram que a exposição à dieta hiperlipídica,
985 rica em ácidos graxos saturados durante o período perinatal pode promover
986 nos descendentes aumento da pressão sanguínea, lesão pró-aterogênica,
987 disfunção endotelial e resistência à insulina (TAYLOR et al., 2005). Outro
988 estudo realizado por Oliveira (2010) demonstrou que a ingestão materna de
989 dieta hiperlipídica durante a gestação e lactação alterou o metabolismo dos
990 descendentes na vida adulta. Estes apresentaram aumento no peso corporal,
991 no perfil lipídico, na glicemia e no consumo alimentar.

992 Segundo Fetitaet al. (2006) o ambiente intrauterino rico em glicose
993 (moderada ou severa hiperglicemia materna) induz hiperplasia nas células
994 pancreáticas dos neonatos, bem como promove o aumento dos níveis de
995 insulina no plasma.

2.3. NUTRIÇÃO E O SISTEMA IMUNE

996

997

998 Atualmente, o tecido adiposo é considerado um órgão endócrino ativo,
999 enviando e respondendo a sinais que modulam o apetite, o consumo
1000 energético, a sensibilidade à insulina, o sistema endócrino e reprodutivo, o
1001 metabolismo ósseo, a inflamação e a imunidade, com os macrófagos
1002 representando 10% do seu total (FANTUZZI, 2005). Os processos
1003 imunológicos envolvidos na defesa do organismo são afetados pelo estado
1004 nutricional. Assim, um balanço energético positivo e a qualidade dos nutrientes
1005 ingeridos na obesidade podem influenciar as respostas inatas e adquiridas
1006 (GRENHA et al., 2013). Vários estudos têm estabelecido uma relação entre o
1007 aumento do IMC e o nível de proteínas inflamatórias. Na obesidade, algumas
1008 têm sua expressão e produção aumentadas, como TNF- α , IL-1, IL-6, PAI-1,
1009 haptoglobina e leptina, enquanto outras são reduzidas como adiponectina e IL-
1010 10 (BERG; SCHERER, 2005). A inflamação sistêmica observada na obesidade
1011 também ocorre pela ação de outros órgãos como o fígado, que produz proteína
1012 C reativa (PCR) que é segregada em resposta a liberação de IL-6 pelo tecido
1013 adiposo (CLÉMENT; VIGUERIE; POITOU, 2004). Esses fatores aumentam a
1014 quantidade de monócitos no sangue (RAMALHO; GUIMARÃES, 2008).

1015 A obesidade também foi associada a alterações na frequência de
1016 subpopulações linfocitárias no sangue periférico. Foi observado um aumento
1017 no número de células T CD4+ em indivíduos obesos e um decréscimo nas
1018 células T CD8+. Porém, não existe concordância entre os vários estudos
1019 realizados. Uns apontam para o aumento de linfócitos na obesidade, outros,
1020 afirmam não haver diferença nas células circulantes (O'ROURKE et al., 2005).

1021 Os estudos em relação à leptina mostram-se controversos. Segundo
1022 Hanauer et al. (2002), há evidências de que a leptina está envolvida na
1023 deficiência da resposta imune humoral e celular. Fruhbeck et al. (2001), porém,
1024 afirmam que a leptina aumenta a produção de citocinas, a adesão e a
1025 fagocitose em macrófagos, além de estimular a proliferação das células T,
1026 levando ao aumento da competência imunológica. Outros estudos mostram
1027 que a leptina influencia a função linfocitária, participa da regulação de
1028 apoptose, desenvolvimento do timo, proliferação e maturação das células T e

1029 modula a expressão de marcadores ativados nas células T CD4+ e T CD8+.
1030 Também desempenha um papel relevante na regulação de apoptose de
1031 monócitos e na regulação da atividade de neutrófilos e macrófagos (MILNER;
1032 BECK, 2012).

1033 A adiponectina participa da resposta imune, inibe a adesão dos monócitos
1034 ao endotélio, reduz a diferenciação mielóide, a produção de citocinas pelos
1035 macrófagos e a fagocitose e inibe a produção e ação de TNF- α (FONSECA-
1036 ALANIZ et al., 2007). Essa citocina diminui a quimiotaxia de macrófagos; inibe
1037 a adesão de monócitos; inibe a transformação de macrófagos em células
1038 espumosas; aumenta a produção de óxido nítrico; estimula a angiogênese; e
1039 suprime a atividade da resistina. De acordo com sua multiplicidade de funções
1040 benéficas, sendo a única com efeitos antiinflamatórios, antidiabéticos e
1041 antiaterogênicos (KERSHAW; FLIER, 2004).

1042 A IL-6 é uma citocina pró-inflamatória que atua aumentando a lipólise,
1043 com inibição da lipase lipoprotéica (LPL) e aumento da liberação de ácidos
1044 graxos livres e glicérol. Reduz a expressão do substrato do receptor de
1045 insulina-1 (IRS-1) e GLUT-4 nos tecidos muscular e hepático. A IL-6 é a
1046 principal citocina pró-coagulante, pois determina a produção e a elevação das
1047 concentrações plasmáticas de fibrinogênio e em especial, da proteína C reativa
1048 (FRANCISCO; HERNÁNDEZ; SIMÓ, 2006).

1049 TNF- α é expresso por adipócitos e células do estroma vascular, incluindo
1050 os macrófagos. Alguns estudos demonstram que seus níveis plasmáticos
1051 possuem correlação positiva com a obesidade e a resistência insulínica. No
1052 TAB, ele reprime a expressão de genes envolvidos na captação e
1053 armazenamento de ácidos graxos livres e glicose; suprime genes de fatores de
1054 transcrição envolvidos na lipogênese; diminui a expressão da adiponectina e
1055 aumenta a da IL-6. No fígado, o TNF- α suprime a expressão de genes
1056 envolvidos na captação de glicose e no metabolismo e oxidação de ácidos
1057 graxos (RUAN et al. 2002).

1058 Tais citocinas pró-inflamatórias como IL-6 e TNF- α , assim como citocinas
1059 anti-inflamatórias como a IL-10 são amplamente sintetizadas no baço,
1060 considerado o maior órgão linfóide do corpo e desempenha um importante
1061 papel no sistema imune do hospedeiro (LAMAS; MARTÍNEZ; MARTI, 2004).

1062 Grandes quantidades de IL-10 são produzidas por células B ativadas, que
1063 amadurecem na zona marginal do baço (GOTOH et al., 2013). Novas
1064 evidências têm mostrado que a produção de IL-10 pelas células B do baço
1065 desempenha um papel regulatório na supressão da resposta imune (PESTKA
1066 et al., 2004). De fato, baixa capacidade de produzir IL-10 tem sido demonstrada
1067 na obesidade (ESPOSITO et al., 2003; WATERS et al., 2007). Além disso, o
1068 baço é um órgão envolvido na produção e manutenção das células vermelhas
1069 do sangue, na produção de determinadas células brancas circulantes, além de
1070 ser parte do sistema linfático e imune. Devido a essa variedade de funções o
1071 tamanho do baço pode encontrar-se aumentado em diversas situações
1072 envolvendo o sangue ou o sistema linfático, como através de infecções,
1073 doenças hepáticas e parasitas (DE FRANCESCHI et al., 2005; ERTEKIN;
1074 SELIMOGLU; PIRIM, 2005). Estudos também indicaram que a esplenomegalia
1075 pode estar presente em casos de obesidade (RASHID; ROBERTS, 2000).
1076 Estudo realizando a indução da obesidade em ratas observou a
1077 esplenomegalia nesses animais, sugerindo que o modelo de dieta hipercalórica
1078 promoveu uma dilatação sinusoidal e um depósito extracelular de lipídios e
1079 hemociderina (ALTUNKAYNAK et al., 2007).

1080

1081 **2.4. COMORBIDADES ASSOCIADAS À OBESIDADE**

1082

1083 A obesidade é um dos principais fatores de risco responsáveis pela
1084 maioria das mortes e doenças no mundo (WORLD HEALTH ORGANIZATION,
1085 2002). Suas complicações incluem o diabetes mellitus tipo 2, a
1086 hipercolesterolemia, a hipertensão arterial, doenças cardiovasculares, apnéia
1087 do sono, problemas psico-sociais, doenças ortopédicas e diversos tipos de
1088 câncer (COUTINHO; GENTIL; TORAL, 2008). Recentemente, manifestações
1089 metabólicas como resistência à insulina, obesidade abdominal, dislipidemia e
1090 hipertensão foram agrupadas em uma única síndrome denominada Síndrome
1091 Metabólica (SM) (MOLLER; KAUFMAN, 2005).

1092 A síndrome metabólica é definida como a associação de pelo menos três
1093 fatores de risco: obesidade abdominal, hipertensão arterial e
1094 hipertrigliceridemia, sendo essa associação considerada precursora de

1095 doenças cardiovasculares e diabetes tipo 2 (ZIMMET et al., 2007). A diabetes
1096 tipo 2 resulta do excesso de tecido adiposo que pode gerar resistência à
1097 insulina. Essa resistência ocorre devido a algumas alterações como excesso de
1098 ácidos graxos livres na circulação, liberação de citocinas e acúmulo de ácidos
1099 graxos em outros tecidos como músculo, fígado e pâncreas (DESPRES;
1100 LEMIEUX, 2006).

1101 As células β pancreáticas são aquelas responsáveis pela liberação
1102 insulina de acordo com a glicemia plasmática. Em indivíduos obesos, estas
1103 células aumentam a secreção e liberação de insulina em resposta ao estado de
1104 resistência à insulina (KAHN et al., 2000). A transição do estado de obesidade
1105 para diabetes tipo 2 ocorre no momento em que as células β pancreáticas
1106 perdem a capacidade de funcionar corretamente em resposta às
1107 concentrações glicêmicas (MUOIO; NEWGARD, 2008). Em modelos de
1108 obesidade, a resistência à insulina está associada à redução da expressão de
1109 transportador de glicose (GLUT4) e/ou prejuízo na via de sinalização da
1110 insulina em músculo esquelético e tecido adiposo, o que está associado a um
1111 quadro de inflamação subclínica característico da obesidade, resultante da
1112 maior circulação de fatores pró-inflamatórios como o fator de necrose tumoral
1113 (TNF- α), interleucina-1b (IL-1 β), entre outros (PANVELOSKI-COSTA, et al.,
1114 2011).

1115 Assim segundo Wisse et al. (2007), o desequilíbrio no gasto energético
1116 leva ao aumento das células adiposas, sendo uma das principais causas de
1117 obesidade, tendo como consequência várias alterações metabólicas.

1118

1119 *2.4.1. Obesidade, lesões Hepáticas e renais*

1120

1121 A obesidade é uma doença comumente associada à Síndrome
1122 Metabólica e a Resistência à Insulina. Tem a capacidade de aumentar a
1123 atividade lipolítica, o que aumenta o influxo de ácidos graxos livres para o
1124 fígado, conseqüentemente levando ao aumento de triglicerídeos, de LDL-c e de
1125 apolipoproteína B, contribuindo indiretamente para o desenvolvimento de
1126 doenças arteriais coronarianas e esteatose hepática não alcoólica (PIANO;
1127 TOCK; DÂMASO, 2009). A doença do fígado gorduroso não-alcoólica

1128 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) é considerada a manifestação
1129 hepática da síndrome metabólica (LOMBARDO et al., 2012). Engloba
1130 alterações como a esteatose, a cirrose e o carcinoma hepatocelular, e está
1131 intimamente associada a obesidade, diabetes e resistência à insulina (LIU et
1132 al., 2011). Os ácidos graxos que chegam ao fígado são provenientes de três
1133 fontes principais: os originários da dieta, absorvidos ao longo do intestino
1134 delgado e carregados como quilomícrons através da veia porta; os que derivam
1135 da hidrólise da gordura dos tecidos adiposos periféricos ou a partir da
1136 transformação de aminoácidos e, mais frequentemente, de carboidratos no
1137 interior do próprio fígado. Uma vez nos hepatócitos, esses ácidos graxos
1138 poderão ser transformados de três maneiras: a primeira ocorre ao nível das
1139 mitocôndrias e dos peroxissomas e envolve a β -oxidação dos ácidos graxos
1140 para fornecimento de energia alternativa, resultando na formação de gás
1141 carbônico, água e corpos cetônicos. Alternativamente, poderão ser
1142 esterificados para formar triglicérides, que junto com colesterol, fosfolípidos e
1143 apolipoproteínas irão compor as lipoproteínas de muito baixa densidade
1144 (VLDL). O VLDL formado é, então, secretado para a corrente sanguínea.
1145 Dessa forma, em condições normais o fígado não acumula gordura no interior
1146 do hepatócito (PARISE; OLIVEIRA, 2007).

1147 Em várias populações, a elevação do IMC e a presença de síndrome
1148 metabólica se associam com diminuição da função renal e aparecimento de
1149 doença renal terminal, independentemente da presença de pressão arterial e
1150 diabetes (BOER et al., 2009). Hall et al. (2003) propõe que a deposição de
1151 gordura visceral poderia determinar compressão da cápsula renal,
1152 determinando retenção hidrossalina por ativação do sistema renina
1153 angiotensina aldosterona, além do aumento da atividade adrenérgica. Isso
1154 poderia causar alterações na hemodinâmica glomerular, ocasionando lesões e
1155 aparecimento de microalbuminúria. Segundo Wang et al. (2009), a obesidade
1156 induzida por uma dieta rica em lipídios aumenta a expressão de um fator
1157 transcricional (SREBP-1), que tem como função o acúmulo de lipídios no tecido
1158 renal, além de aumentar a atividade de citocinas pró-inflamatórias e fatores de
1159 crescimento profibróticos.

1160 Além disso, sabe-se que na patologia renal, a indução da obesidade
1161 utilizando-se dieta hipercalórica promove um aumento no inibidor ativador do
1162 plasmiógênio-1 (PAI-1), no fator de crescimento endotelial vascular (VEGF),
1163 colágeno tipo IV e fibronectina resultando em glomeruloesclerose e proteinúria
1164 (JIANG et al., 2005).

1165 O VEGF pertence a um grupo de glicoproteínas diméricas que inclui o
1166 fator de crescimento placentário (PLGF), VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D,
1167 VEGF-E, e VEGF-F (CAPP et al., 2009). Atua diretamente através dos
1168 receptores VEGFR-1 e VEGFR-2, expressos principalmente no endotélio
1169 vascular (DVORAK et al., 1995). A ligação do VEGF a esses receptores causa
1170 influxo de cálcio citoplasmático, aumentando sua concentração em até quatro
1171 vezes (DAWSON et al., 2006), promovendo também um aumento da
1172 permeabilidade das vênulas às macromoléculas, o que permite que proteínas
1173 plasmáticas extravasem, levando a coagulação do fibrinogênio e deposição de
1174 gel de fibrina que serve como matriz provisória para o crescimento de novos
1175 vasos sanguíneos (FERRARA, 1997). Características que podem ser
1176 observadas em diversos processos fisiopatológicos, como nas alterações
1177 renais de diversos pacientes com obesidade.

1178

1179 *2.4.2. Obesidade e danos oxidativos*

1180

1181 Segundo Cutler (2005), o estresse oxidativo é definido como um
1182 desequilíbrio entre antioxidantes e espécies reativas de oxigênio (EROs) a
1183 favor dos últimos. As EROs, que incluem radicais livres, são continuamente
1184 produzidas no corpo e têm importante papel fisiológico em baixas
1185 concentrações. Em altas concentrações, devido a sua alta reatividade, as
1186 EROs causam lesões irreversíveis através de alterações oxidativas em lipídios,
1187 proteínas e no DNA. Suspeita-se que alterações nestas estruturas estejam
1188 ligadas ao desenvolvimento de várias patologias humanas incluindo o câncer.

1189 O estresse oxidativo é uma reação deletéria desencadeada por efeitos
1190 tóxicos causados por radicais livres no interior da célula (ALESSIO, 1993). As
1191 espécies reativas ao oxigênio (EROs) são átomos, íons ou moléculas que
1192 contém oxigênio com um elétron não-pareado em sua órbita externa. São

1193 caracterizados por grande instabilidade e elevada reatividade e tendem a ligar
1194 o elétron não-pareado com outros presentes em estruturas próximas de onde
1195 os EROs se formam, comportando-se como receptores (oxidantes) ou
1196 doadores (redutores) de elétrons. O potencial destrutivo do oxigênio é atribuído
1197 a sua possibilidade de desviar-se do estado estável diradical (O₂) para um
1198 estado de forma ativa, tal como o oxigênio singlete (¹O₂) e no estado de radical
1199 livre conhecido como radical ânion superóxido (RYAN; AUST, 1992). Os
1200 lipídios são as biomoléculas mais suscetíveis a reagir com EROs (HALLIWELL;
1201 GUTTERIDGE, 1989).

1202 No fígado, a progressão da esteatose hepática está relacionada à ação
1203 de citocinas pró-inflamatórias, à disfunção mitocondrial e ao estresse oxidativo
1204 (LEITE; JAMAR; CARANTI, 2014). Stranahan et al. (2011) observaram, em
1205 estudo recente, que a indução da alimentação rica em gordura saturada e
1206 açúcares simples em ratos aumentou o ganho de peso e as concentrações
1207 séricas de colesterol, assim como seu acúmulo no fígado e no hipocampo.
1208 Segundo os autores, o acúmulo de colesterol no hipocampo está relacionado
1209 ao maior estresse oxidativo, resultando em consequências na função neural.

1210 Em pessoas obesas, existem vários fatores que interferem na
1211 suscetibilidade do indivíduo à presença de lesões oxidativas. Dentre eles
1212 merecem destaque a hiperglicemia, a atividade muscular aumentada, os
1213 elevados níveis de lipídios teciduais, a inflamação crônica, as defesas
1214 antioxidantes inadequadas e a hiperleptinemia (FRANÇA et al., 2013). A
1215 obesidade pode produzir peroxidação lipídica de três maneiras: aumentando a
1216 necessidade metabólica do miocárdio, o que aumenta o consumo de oxigênio e
1217 consequentemente a produção de EROS; através da lesão celular progressiva
1218 e cumulativa devido à pressão exercida pela grande massa corporal, levando a
1219 produção de citocinas e EROS; ou através de uma dieta hiperlipêmica,
1220 alterando o metabolismo do oxigênio, pois as moléculas dos ácidos graxos com
1221 duplas ligações são vulneráveis a reações oxidativas e consequentemente
1222 podem levar a peroxidação lipídica (NEVES, 2010). O processo de peroxidação
1223 lipídica pode iniciar-se em membranas celulares, especialmente na membrana
1224 interna da mitocôndria, quando o radical hidroxila busca abstrair o hidrogênio
1225 das ligações C-H da cadeia dos ácidos graxos poli-insaturados. Esta condição

1226 trará consequências homeostáticas severas para a membrana, refletindo,
1227 principalmente, na sua perda de integridade, permeabilidade e fluidez
1228 (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989). Os produtos formados das oxidações dos
1229 lipídios (malondialdeídos) podem ser quantificados em espectrofotômetro por
1230 técnicas específicas laboratoriais (ANTUNES-NETO, 2003).

1231 Dessa forma, como o dano oxidativo é uma condição presente
1232 observada no desenvolvimento da obesidade e das suas comorbidades, a
1233 administração de substâncias antioxidantes, que pudessem neutralizar os
1234 radicais livres ou elevar a defesa antioxidante nesses portadores poderia
1235 apresentar-se como uma alternativa aos diversos tipos de tratamentos já
1236 existentes. Um potente agente antioxidante produzido naturalmente pelo
1237 organismo é a melatonina, hormônio produzido e secretado pela glândula
1238 pineal, que desempenha diversas funções fisiológicas (MAGANHIN et al.
1239 2008).

1240

1241 **2.5. SÍNTESE E AÇÃO DA MELATONINA**

1242

1243 Nos mamíferos, a integração entre a temporalidade externa e interna, ou
1244 seja, a percepção entre o claro e o escuro, é fornecida pelos núcleos
1245 supraquiasmáticos (NSQ) do hipotálamo (FUCHS et al., 2010), que recebem
1246 informações da luminosidade advindas diretamente do ambiente através do
1247 feixe nervoso retino-hipotalâmico (BUENO; WEY, 2012). A partir destas
1248 informações, os NSQ trabalham como um relógio fornecendo o sinal para a
1249 sincronização da ordem temporal interna com o ciclo claro/escuro dado pelo
1250 movimento de rotação da terra (PEREIRA; TUFIK; PEDRAZZOLI, 2009). As
1251 mensagens, que partem dos NSQ, são transmitidas para neurônios do
1252 segmento cervical da medula, e, em seguida, são enviadas para os gânglios
1253 simpáticos cervicais superiores, e destes para a glândula pineal (HIRIART,
1254 2012).

1255 Esta glândula, também conhecida como epífise, está localizada no teto do
1256 terceiro ventrículo entre os dois hemisférios cerebrais, originando-se do
1257 diencéfalo (MAGANHIN et al., 2008). É um órgão endócrino ativo, formado por
1258 células com função neurosecretora, os pinealócitos, e por células intersticiais

1259 semelhantes às células da glia (COMMENTZ; HELMKE, 1995). Seus produtos
1260 bioquimicamente específicos são indolaminas e peptídeos. A melatonina, uma
1261 indolamina, é o mais bem estudado dos produtos pineais (CALVO et al., 1995).
1262 Possui baixo peso molecular e característica anfifílica, ou seja, difunde-se tanto
1263 nos meios lipofílicos como hidrofílicos (CIPOLLA-NETO; AFECHE, 2008),
1264 permitindo sua entrada em qualquer compartimento do organismo.

1265 Em humanos também é conhecida como N-acetil-5-metoxitriptamina, um
1266 composto orgânico de coloração amarelo-claro, que é transportada no plasma
1267 ligado a proteínas, em especial à albumina, tendo sua vida média variando
1268 entre 30 e 60 minutos (MAGANHIN et al., 2008).

1269 A melatonina é sintetizada pelos pinealócitos a partir do neurotransmissor
1270 serotonina, o qual, por sua vez, tem como precursor o aminoácido triptofano
1271 (MAGANHIN et al., 2008). Esse processo ocorre quando a enzima
1272 triptofanhidroxilase (TH) converte o triptofano em 5-hidroxitriptofano (5-HTP).
1273 Posteriormente a 5-hidroxitriptofano descarboxilase (5-HTPD) remove o grupo
1274 alfa-carboxil terminal do 5-HTP e o transforma em serotonina. A N-
1275 acetiltransferase (NAT) catalisa a transferência do grupo acetil para a
1276 serotonina a partir do acetil-CoA, resultando na formação da N-acetilserotonina
1277 (NAS). Por fim, a enzima hidroxindol-O-metiltransferase (HIOMT) catalisa a
1278 reação de conversão do NAS em melatonina (CLAUSTRAT; BRUN; CHAZOT,
1279 2005; MARONDE et al., 2011). Como a HIOMT só pode ser fabricada na
1280 ausência de luz, o mesmo ocorre com a melatonina, que é então denominada
1281 de agente endócrino da escuridão (HIRIART et al., 2012; PEKELMAN et al.,
1282 2003).

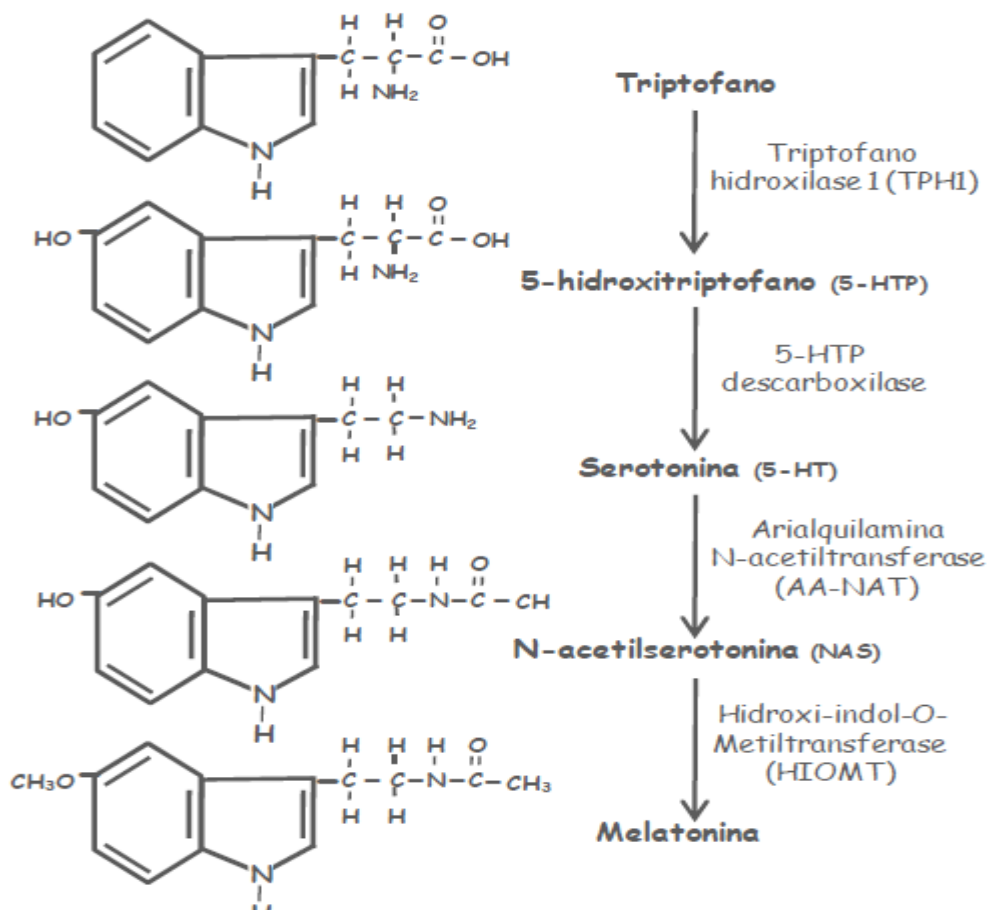


Figura 3. Via Biosintética da melatonina (REITER et al., 2000)

1283

1284

1285

1286 Além da pineal, outras fontes podem produzir melatonina, tais como:
 1287 retina, células imunocompetentes, trato gastrointestinal, fígado, testículos,
 1288 ovários e em quantidade menor em outros locais (HARDELAND et al., 2011).
 1289 Essas fontes extrapineal contribuiriam minimamente para a concentração
 1290 plasmática da melatonina, porém, teriam importância considerável para ação
 1291 parácrina e/ou autócrina desse hormônio (PONTES et al., 2006).

1292 O pico de secreção da melatonina é alcançado na primeira metade da
 1293 noite, decaindo gradualmente (HIRIAT et al., 2012). Durante esse período, ela
 1294 banha as células e tecidos, fornecendo uma série de informações rítmicas,
 1295 permitindo a diferenciação entre o dia e a noite (CARILLO-VICO et al., 2004).
 1296 Em virtude das estações do ano, conforme os dias vão ficando mais curtos, a
 1297 exposição dos animais à melatonina aumenta, informando ao organismo a
 1298 duração da noite, e conseqüentemente, o período do ano correspondente
 1299 (HARDELAND et al., 2011).

1300 Essa indolamina participa de uma grande variedade de processos
1301 celulares, neuroendócrinos, e neurofisiológicos, como a regulação do ciclo
1302 sono-vigília, do sistema imunológico, cardiovascular, além de influenciar o ritmo
1303 de vários outros processos durante a noite: a digestão torna-se mais lenta, a
1304 temperatura corporal cai, o ritmo cardíaco e a pressão sanguínea diminuem e o
1305 sistema imunológico é estimulado (HIRIAT et al., 2012).

1306 Sabe-se, ainda, que a melatonina é um potente agente antioxidante, e
1307 eliminador de radicais livres. Regula vários processos fisiológicos no fígado,
1308 apresentando receptores, tanto na membrana quanto na carioteca das células
1309 hepáticas (NAJI et al., 2004), podendo também inibir o crescimento de
1310 hepatocarcinomas (CARRILLO-VICO et al., 2005).

1311 Existem três principais vias de degradação deste hormônio, sendo a
1312 hepática considerada a via clássica, onde a enzima CIP P450 do fígado
1313 metaboliza a melatonina em 6- hidroximelatonina, que em seguida é conjugada
1314 com um sulfato ou glucoronida, sendo então secretada na urina (SLOMINSKI et
1315 al., 2012). Quando a melatonina reage com o peroxinitrito (ONOO-) forma o
1316 metabólito 6- hidroximelatonina que manifesta uma atividade antioxidante maior
1317 em determinados modelos in vitro (REITER; TAN; BURKHARDT, 2002).

1318 Foram identificados receptores para a melatonina de membrana
1319 plasmática de alta afinidade (denominados MT1 e MT2) e de baixa afinidade
1320 (denominado MT3). Existem também receptores nucleares, denominados
1321 RZR/ROR (CONWAY et al., 2000).

1322

1323 **2.6. MELATONINA E SISTEMA IMUNOLÓGICO**

1324

1325 Os estudos relacionados ao envolvimento da melatonina com o sistema
1326 imunológico são controversos. Alguns a apontam como um agente anti-
1327 inflamatório; outros, afirmam que esse hormônio possui um efeito positivo
1328 sobre o processo inflamatório (CALVO; GONZALEZ-YANES; MALDONADO,
1329 2013).

1330 De acordo com Jarzynka et al. (2006) a melatonina atua no tratamento do
1331 câncer, pois estimula a atividade anti-mitótica do sistema imune, participa da
1332 regulação da fisiologia gastrintestinal, da função cardiovascular, da função

1333 renal, da função reprodutora e da fisiologia óssea além de possuir funções
1334 antiinflamatórias. Maganhinet al. (2008), porém, afirmam que a modulação do
1335 sistema imunológico é um processo que ocorre por diferentes fatores, inclusive
1336 pela presença de hormônios, como é o caso da melatonina, que parece ser
1337 capaz de aumentar a atividade e mobilidade das células de defesa, estimular a
1338 formação de anticorpos e facilitar a defesa contra microrganismos.
1339 Chahbouniet al. (2010) afirmam que a melatonina melhora a inflamação
1340 bloqueando fatores transcricionais e inibindo a ativação transcricional de
1341 citocinas pró-inflamatórias como TNF- α e interleucina1 (IL-1) e das enzimas
1342 inflamatórias COX-2 e iNOS.

1343 As células e órgãos do sistema imune apresentam receptores para este
1344 hormônio, como os MT1 (Mel 1a), encontrados em células B, T CD4+, e T
1345 CD8+, bem como no timo e no baço, e MT2 (Mel 1b), que foram detectados
1346 exclusivamente nas células do timo (CARILLO-VICO et al., 2005). Há ainda
1347 outro tipo de receptor, o MT3, que apresenta classificação controversa,
1348 podendo ser considerado também como enzima, a quinonaredutase II (NQO2),
1349 que regula a adesão dos leucócitos no endotélio vascular (SLOMINSKI et al.,
1350 2012; VINCENT et al., 2010). Além de apresentarem tais receptores, a
1351 literatura relata que a indolamina vem sendo produzida por células do sistema
1352 imune, como leucócitos, incluindo monócitos, eosinófilos, mastócitos, linfócitos
1353 T, células Natural Killer (NK) e células da medula óssea (CARRILO-VICO et al.,
1354 2005; LARDONE et al., 2006), assim como sua biossíntese também vem sendo
1355 descrita em timócitos (NARANJO et al., 2007; SANCHEZ-HIDALGO et al.,
1356 2009), demonstrando que a relação da melatonina com o sistema imune não
1357 depende exclusivamente da glândula pineal (SLOMINSKI et al., 2012).

1358 Berger (2008) afirma que a melatonina atua tanto na imunidade inata
1359 quanto na adaptativa. Na imunidade inata aumenta a produção de citocinas,
1360 enquanto que na imunidade adaptativa eleva o número de células
1361 imunocompetentes. Em estudos usando ratos, a melatonina administrada por
1362 via oral demonstrou seu efeito imunomodulador, promovendo aumento da
1363 atividade proliferativa de linfócitos e síntese de DNA em linfócitos tímicos e
1364 esplênicos (MARTINS et al., 1998). Assim como em ratos portadores de tumor,
1365 a utilização de melatonina exógena acarretou em um aumento tanto na

1366 produção linfocítica, como na habilidade regulatória de produção de citocinas
1367 por macrófagos após tratamento com esse hormônio (EL-SOKKARY; REITER;
1368 ABDEL-GHAFFAR, 2003), além disso, estudos demonstraram que a baixa
1369 produção de melatonina poderia induzir um estado de imunodepressão e estar
1370 associado a causa de inúmeras doenças (REITER, 1989).

1371

1372 **2.7. PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES DA MELATONINA**

1373

1374 Os mais conhecidos antioxidantes não-enzimáticos são: vitamina E (α -
1375 tocoferol), vitamina C (ascorbato), glutathione (GSH), β -caroteno e melatonina
1376 (QIAO; HOU; LIU, 2006). Em alguns casos, a eficácia da melatonina como
1377 antioxidante supera a da GSH e da vitamina E (TOMÁS- ZAPICO; COTO-
1378 MONTES, 2005). Foi observada a potente ação desseneurohormônio como
1379 sequestrador de radical hidroxil, radical ânion superóxido, radical monóxido de
1380 nitrogênio, oxigênio molecular (*singlete*), ânion peroxinitrito, peróxido de
1381 hidrogênio (TAN et al., 2002; REITER et al., 2001; PAPPOLLA et al., 2001), e
1382 possivelmente radicais peroxil (PIERI et al., 1995), que são gerados por
1383 reações em cadeia de lipoperoxidação de ácidos graxos polinsaturados
1384 presentes amplamente no cérebro (PAPPOLLA et al., 2001). Em 1993
1385 evidenciou-se, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, a atividade da melatonina como
1386 potente sequestradora de espécies reativas em ratos (TAN et al., 1993).

1387 A base molecular para atribuir uma ação antioxidante à melatonina
1388 baseia-se na sua capacidade de atuar como um doador de elétrons em
1389 processos não enzimáticos, além de inibir enzimas da família citocromo P450.
1390 De forma geral, sugere-se que a melatonina reduza a formação de
1391 peroxinitritos em modelos de inflamação e pleurisia, peroxidação lipídica e a
1392 expressão da síntese de óxido nítrico. O efeito antioxidante da melatonina é
1393 obtido apenas com doses farmacológicas, isto é, doses superiores às
1394 concentrações encontradas no plasma (COMMENTZ; HELMKE, 1995).

1395 De acordo com Reiter et al. (2003), a ação antioxidante da melatonina
1396 parece agir por diferentes vias: neutralizando diretamente os radicais livres,
1397 estimulando enzimas oxidantes, aumentando a eficiência da fosforilação
1398 oxidativa mitocondrial e reduzindo o vazamento de elétrons (diminuindo, com

1399 isso, a geração de radicais livres) e aumentando a eficiência de outros
1400 antioxidantes. A melatonina tem a capacidade de sequestrar ambas as
1401 espécies reativas de oxigênio (EROs) e de nitrogênio (ERN) incluindo ânion
1402 superóxido (O₂⁻), peróxido de hidrogênio (H₂O₂), ácido hipocloroso (HOCl),
1403 óxido nítrico (NO), e ânion peroxinitrito (ONOO⁻) (ALLEGRA et al., 2003).

1404

1405 **2.8. MELATONINA E TECIDO ADIPOSEO**

1406

1407 A atividade funcional do tecido adiposo demonstra forte correlação com
1408 os ritmos circadianos, comprovando que existe um elo entre a glândula pineal e
1409 esse tecido. Os níveis circulantes de algumas citocinas como adiponectina,
1410 leptina, IL-6 e TNF- α , apresentam um perfil oscilatório num período de 24
1411 horas, atestando essa correlação. A desregulação desse ritmo correlaciona-se
1412 com aumento do risco de obesidade, doenças cardiovasculares, diabetes,
1413 hipertensão, resistência a insulina, hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia (DI
1414 LORENZO et al., 2003).

1415 Estudos apontam que a melatonina tem um importante papel na
1416 regulação da massa corpórea e balanço energético, podendo atuar de forma
1417 direta nos adipócitos, através de receptores MT1 e MT2 (ALONSO-VALE et al.
1418 2006). Adipócitos isolados de TAB incubados com melatonina mostraram que
1419 esse hormônio aumenta a sensibilidade a insulina mediada através de testes
1420 de captação de glicose (LIMA et al., 1994). Segundo Alonso-Vale et al. (2004),
1421 a produção normal de leptina pelo TAB de ratos pinealectomizados se mostrou
1422 reduzida em relação aos animais intactos durante o jejum. Outros trabalhos
1423 confirmaram ainda que a pinealectomia leva a um quadro de resistência a
1424 insulina devido a uma queda de mais de 50% na quantidade de
1425 transportadores GLUT-4 nas células do tecido adiposo e muscular (LIMA et al.,
1426 1998) e que a reposição noturna de melatonina nesses animais provocava a
1427 reversão completa do quadro (ZANQUETTA et al., 2003). Estudos realizados
1428 por Alonso-Vale et al. (2004) demonstraram que a captação da glicose em
1429 animais pinealectomizados mostrou-se reduzida em diferentes momentos do
1430 ciclo claro/escuro.

1431 Segundo Pereira (2009), o tratamento crônico com melatonina induz
1432 aumento da sensibilidade à insulina acompanhada de regulação positiva das
1433 etapas iniciais da ação do hormônio em hipotálamo, fígado, músculo
1434 esquelético e tecido adiposo de ratos com 13 meses de idade. Rasmussen et
1435 al. (2001) administrou melatonina a ratos senis (10 meses de idade) e
1436 percebeu que a melatonina suprimiu características relacionadas ao
1437 envelhecimento como aumento da adiposidade, queda nos níveis de leptina e
1438 insulina e redução do peso corporal. Em estudo recente, Hussain (2007),
1439 demonstrou que a administração de melatonina inibe a absorção de colesterol
1440 e poderia ser um auxiliar no tratamento da hipercolesterolemia, por diminuir o
1441 colesterol plasmático, o perfil lipoprotéico e o conteúdo lipídico do fígado.

1442

1443 3. REFERÊNCIAS

1444

1445 ACCIOLY, E. ; SAUNDERS, C.; LECERDA, A. Nutrição em obstetrícia e
1446 pediatria. Rio de Janeiro. **Cult. Med.**, 2005.

1447

1448 AHIMA, R.S.; FLIER, J. S. Adipose tissue as an endocrine organ. **Trends**
1449 **Endocrinol. Metab.** v. 11, p. 327-332, 2000.

1450

1451 AINSLIE, D. A.; PROIETTO, J.; FAM, B.C.; THORBURN, A.W. Short-term, high-
1452 fat diets lower circulating leptin concentrations in rats. **Am. J. Clin. Nutr.** v. 71,
1453 p. 438-442, 2000.

1454

1455 ALESSIO, H.M. Exercise-induced oxidative stress. **Med. Sci. Sports**
1456 **Exerc.** v.25, p. 218-224, 1993.

1457

1458 ALLEGRA, M.; REITER, R. J.; TAN, D. X.; GENTILE, C.; TESORIERE, L.;
1459 LIVREA, M.A. The chemistry of melatonin's interaction with species. **J. Pineal**
1460 **Res.**, v.34, n.1, p. 1-10, 2003.

1461

1462 ALONSO-VALE, M. I. C.; ANDREOTTIS, S.; BORGES-SILVA, C.N.; MUKAY,
1463 P. Y.; CIPOLLA-NETO, J.; LIMA, F. B.; Intermittent and rhythmic exposure to
1464 melatonin in primary cultured adipocytes enhances the insulin and
1465 dexamethasone effects on leptina expression. **J. Pineal Res.**, v.41, p. 28-43,
1466 2006.

1467

1468 ALONSO-VALE, M.I.C; FORATO-ANHÊ, G.; BORGES-SILVA, C.N.;
1469 ANDREOTTI, S; PERES, S. B.; CIPOLLA-NETO, J.; LIMA, F.B.; Pinealectomy
1470 alters adipose tissue adaptability to fasting in rats. **Metabolism.** v. 53, p. 500-
1471 506, 2004.

1472

- 1473 ALTUNKAYNAK, B. Z.; ELVAN, O.; MUHAMMED, E. "A stereological and
1474 histological analysis of spleen on obese female rats, fed with high fat
1475 diet." **Saudi med. J.**, v.28, n.3, p 353-357, 2007.
1476
- 1477 ANTUNES-NETO, J. M. F. Estudo da relação entre estresse oxidativo e síntese
1478 de proteínas de estresse "HSP70" no sangue de animais submetidos a
1479 diferentes níveis de exercício. Campinas; 2003 [**Tese de Doutorado –**
1480 **Instituto de Biologia da UNICAMP**].
1481
- 1482 BAGBY, S. P. Maternal nutrition, lownephronnumber, andhypertension in later
1483 life: pathwaysofnutritionalprogramming. **J. Nutr.** v. 137, p. 1066–1072, 2007.
1484
- 1485 BARRETO-MEDEIROS, J.; QUEIROS-SANTOS, A.; CABRAL-FILHO, J. E.;
1486 SILVA, W. T. F.; LEANDRO, C. G.; DEIRÓ, T. C.; MANHAES-DE-CASTRO, R.;
1487 BARBOSA-DE-CASTRO, C. M. M. Stress/Aggressiveness-
1488 inducedimmunechanges are altered in adultratssubmittedto neonatal
1489 malnutrition. **Neuroimmunomodulat.** v. 14, p. 229-334, 2007.
1490
- 1491 BERG, A. H.; COMBS, T. P.; SCHERER, P. E. ACRP30/adiponectin: an
1492 adipokine regulating glucose and lipid metabolism. **Trends Endocrinol. Metab.**
1493 v. 13, n.2, p. 84–89, 2002.
1494
- 1495 BERG, A. H.; SCHERER, P. E. Adipose Tissue, Inflammation, and
1496 Cardiovascular Disease.**Circ. Res.**, v. 96, p. 939-949, 2005.
1497
- 1498 BERGER, J. A two-clock model of circadian timing in the immune system of
1499 mammals.**Pathol- Biol.**, v. 56, p. 286 – 291, 2008.
1500
- 1501 BJÖRNTORP, P. Neuroendocrine ageing. **J. Intern. Med.**, v. 238, p. 401–404,
1502 1995.
1503
- 1504 BOER, I.H.; KATZ, R.; FRIED, L.F.; IX, J.H.; LUCHSINGER, J.; SARNAK, M.J.;
1505 SHLIPAK, M.G.; SISCOVICK, D.S.; KESTENBAUM, B. Obesity and change in
1506 estimated GFR among older adults. **Am. J. Kidney Dis.**, v.54, p. 1043-1051,
1507 2009.
1508
- 1509 BORGES-SILVA, C.N.; ALONSO-VALE, M.I.C.; FRANZÓI DE MORAES, S.M.;
1510 TAKADA, J.; PERES, S.B.; ANDREOTTI, S.; SKORUPA, A. L.; CIPOLLA-
1511 NETO, J.; PITHON-CURI, T. C.; LIMA, F. B. Pinealectomy impairs adipose
1512 tissue adaptability to exercise in rats. **J. Pineal Res.**, v. 38, p.278-283, 2005.
1513
- 1514 BOUANANE, S.; MERZOUK, H.; BENKALFAT, N.B.; SOULIMANE, N.;
1515 MERZOUK, S.A.; GRESTITI, J.; TESSIER, C.; NARCE, M. Hepatic and very low-
1516 density lipoprotein fatty acids in obese offspring of overfed dams. **Metabolism.**
1517 v. 59, p.1701-1709, 2010.
1518
- 1519 BRASIL. Portal da Saúde – Sus. Vigitel, 2011. Quase metade da população
1520 brasileira está acima do peso. Disponível em:

1521 <[http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/noticia/4718/162/quase-metade-
1523 da-populacaobrasileira-esta-acima-do-peso.html](http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/noticia/4718/162/quase-metade-
1522 da-populacaobrasileira-esta-acima-do-peso.html)>.
1524 BUENO, C.; WEY, D. Gênese e ontogênese do ritmo de sono/ vigília em
1525 humanos. **Rev. Biol.** v. 9, n. 3, p. 62-67, 2012.
1526
1527 CALVO, J. R.; RAFII-EL-IDRISSI, M.; POZO, D.; GUERRERO, J. M.;
1528 Immunomodulatory role of melatonin: specific binding sites in human and rodent
1529 lymphoid cells (review). **J. Pineal Res.** v.18, p. 119-126, 1995.
1530
1531 CALVO, J. R.; GONZALEZ-YANES, C.; MALDONADO, M. D. The role of
1532 melatonin in the cells of the innate immunity: a review. **J. Pineal Res.**, v. 55, n.
1533 2, p. 103-120, 2013.
1534
1535 CANNON, B.; NEDERGAARD J. Brown adipose tissue: function and
1536 physiological significance. **Physiol. Ver.** v. 84, p. 277 – 359, 2004.
1537
1538 CAPP, C.; ZENNIG, N.; WAJNER, S.; MAIA, A. L. Papel do fator de
1539 crescimento endotelial vascular nos carcinomas de tireóide. **Rev. HCPA**, v. 29,
1540 n. 1, p. 51-59, 2009.
1541
1542 CARRILLO-VICO, A.; LARDONE, P. J.; NAJI, L.; FERNÁNDEZ-SANTOS, J.
1543 M.; MARTÍN-LACAVE, I.; GUERRERO, J. M.; CALVO, J. R. Beneficial
1544 pleiotropic actions of melatonin in an experimental model of septic shock in
1545 mice: regulation of pro-/anti-inflammatory cytokine network, protection against
1546 oxidative damage and anti-apoptotic effects. **J. Pineal Res.** v.39, n. 4, p. 400–
1547 408, 2005.
1548
1549 CARRILLO-VICO, A.; CALVO, J.R.; ABREU, P.; LARDONE, P.J.; GARCIA-
1550 MAURINO, S.; REITER, R.J.; GUERRERO, J.M. Evidence of melatonin
1551 synthesis by human lymphocytes and its physiological significance: possible
1552 role as intracrine, autocrine, and/or paracrine substance. **FASEB.** v. 18, n. 3, p.
1553 537-539, 2004.
1554
1555 CARRILO-VICO, A.; CALVO, J. R.; ABREU, P.; LARDONE, P. J.; GARCIA-
1556 MAURIÑO, S.; CHOI, W. S.; CHO, G. J.; WON, C. K.; KOH, P. O. Expression of
1557 melatonin growth factors mRNA in the rat placenta during mid-late pregnancy.
1558 **J. Veterinary Sci.**, v. 6, p. 179-183, 2005.
1559
1560 CHAHBOUNI, M.; ESCAMES, G.; VENEGAS, C.; SEVILLA, B.; GARCÍA, J. A.;
1561 LÓPEZ, L. C.; MUÑOZ- HOYOS, A.; MOLINA-CARBALLO, A.; ACUÑA-
1562 CASTROVIEJO, D. Melatonin treatment normalizes plasma pro-inflammatory
1563 cytokines and nitrosative/oxidative stress in patients suffering from Duchenne
1564 muscular dystrophy. **J. Pineal Res.**, v. 48, n.3, p. 282-289, 2010.
1565
1566 CHECHI, K.; HERZBERG, G. R.; CHEEMA, S. K. Maternal dietary fat intake
1567 during gestation and lactation alters tissue fatty acid composition in the adult
1568 offspring of C57Bl/6 mice. **PLEFA**, v. 83, p. 97-104, 2010.
1569

1570 CIPOLLA-NETO, J.; AFECHE, S. C. Glândula pineal. In: Aires MM (Ed.) **Fisiol.**
1571 3º ed. Rio de Janeiro: Editora Ganabara Koogan, p. 981-990, 2008.
1572

1573 CLAUSTRAT, B.; BRUN, J.; CHAZOT, G. The basic physiology and
1574 pathophysiology of melatonin. **Sleep Med. Rev.** v. 9, n. 1, p. 11-24, 2005.
1575

1576 CLÉMENT, K.; VIGUERIE, N.; POITOU, C.; CARETTE, C.; PELLOUX, V.;
1577 CURAT, C. A.; SICARD, A.; ROME, S.; BENIS, A.; ZUCKER, J. D.; VIDAL, H.;
1578 LAVILLE, M.; BARSH, G. S.; BASDEVANT, A.; STICH, V.; CANCELLO, R.;
1579 LANGIN, D. Weight loss regulates inflammation-related genes in white adipose
1580 tissue of obese subjects. **FASEB J.** v.18, p.1657-1669, 2004.
1581

1582 COMMENTZ, J. C.; HELMKE, K. Precocious puberty and decreased melatonin
1583 secretion due to a hypothalamic hamartoma. **Horm.Res.**, v.44, n. 6, p. 271-275,
1584 1995.
1585

1586 CONWAY, S.; CANNINGA, S. J.; HOWELLA, H. E.; MOWATA, E. S.;
1587 BARRETTA, P.; DREWA, J. E.; DELAGRANGE, P.; LESIEUR, D.;
1588 MORGANA, P. J. Characterisation of human melatonin MT1 and MT2 receptors
1589 by CRE-luciferase reporter assay. **Eur. J. Pharmacol.** v. 390, p. 15-24, 2000.
1590

1591 COUTINHO, J. G.; GENTIL, P. C.; TORAL, N. A desnutrição e obesidade no
1592 Brasil: o enfrentamento com base na agenda única da nutrição. **Cad. Saúde**
1593 **Pública**, p. S332-S340, 2008.
1594

1595 CUTLER, R.G. Oxidative stress profiling: part I. Its potential importance in the
1596 optimization of human health. **Ann. N Y Acad. Sci.**v.1055, p.93-135, 2005.
1597

1598 DA SILVA, A.S.; PAULI, J.R.; ROPELLE, E.R.; OLIVEIRA, A.G.; CINTRA, D.E.;
1599 DE SOUZA C.T. Exercise intensity, inflammatory signaling and insulin
1600 resistance in obese rats. **Med. Sci. Sports Exerc.** v.42, n.12, p.2180-8, 2010.
1601

1602 DAMIANI, D.; DAMIANI, D.; MENEZES FILHO, H. C. Controle do apetite:
1603 mecanismos metabólicos e cognitivos. **Pediatr.**v. 32(3), p. 211-222, 2010.
1604

1605 DANTAS, L. P. F. Dieta hiperlipídica e exercício físico: conseqüências sobre o
1606 metabolismo e a peroxidação lipídica - Estudo Em Modelo Animal.
1607 **[Dissertação de Mestrado apresentada ao Departamento de Alimentos e**
1608 **Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade**
1609 **Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”].** Araraquara, 2007.108 p.
1610

1611 DAWSON, N. S.; ZAWIEJA, D. C.; WU, M. H.; GRANGER, H. J. Signaling
1612 pathways mediating VEGF165-induced calcium transients and membrane
1613 depolarization in human endothelial cells. **Faseb. J.**, v. 20, n. 7, p. 991-993,
1614 2006.
1615

1616 DE FARIAS, TALITA DA SILVA MENDES. **Caracterização do perfil diário da**
1617 **lipólise e lipogênese no tecido adiposo de ratos adultos e a influência da**
1618 **pinelectomia.** 2010. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

1619 DE FRANCESCHI, L.; SADA, S.; ANDREOLI, A.; ANGHEBEN, A.; MAROCCO,
1620 S.; BISOFFI, Z. Sickle cell disease and hyperreactive malarial splenomegaly
1621 (HMS) in young immigrants from Africa. **Blood**, v.106, p. 4415-4417, 2005.
1622

1623 DE PIANO, A.; TOCK, L.; DÂMASO, A. Obesidade e esteatose hepática não-
1624 alcoólica. **In: Dâmaso**. Obesidade. 2° ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
1625 p. 31-49, 2009.
1626

1627 DEFRONZO, R. A. Dysfunctional fat cells, lipotoxicity and type 2 diabetes. **Int.**
1628 **J. Clin. Pract.** v. 58, n. 143, p. 9-21, 2004.
1629

1630 DESPRES, J. P.; I. LEMIEUX. Abdominal obesity and metabolic syndrome. **Nat.**
1631 v.444, n.7121, p.881-887, 2006.
1632

1633 DI LORENZO, L.; DE PERGOLA, G.; ZOCCHETTI, C.; L'ABBATE, N.; BASSO,
1634 A.; PANNACCIULLI, N.; CIGNARELLI, M.; GIORGINO, R.; SOLEO, L. Effect of
1635 shift work on body mass index: results of a study performed in 319 glucose-
1636 tolerant men working in a Southern Italian industry. **Int. J. Obes. Relat. Metab.**
1637 **Disord.**v.27, p.1353-1358, 2003.
1638

1639 DOBRIAN, A.D.; DAVIES, M.J.; PREWITT, R.L.; LAUTERIO, T.J. Development
1640 of hypertension in a rat model of diet-induced obesity. **Hypertension**. v. 35, n.
1641 4, p.1009-15, 2000.
1642

1643 DVORAK, H. F.; BROWN, L. F.; DETMAR, M.; DVORAK, A. M. Vascular
1644 permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular
1645 hyperpermeability, and angiogenesis. **Am. J. Pathol**, v.146, n. 5, p. 1029-1039,
1646 1995.
1647

1648 EL-SOKKARY, G. H.; REITER, R. J.; ABDEL-GHAFFAR, S. K. H. Melatonin
1649 supplementation restores cellular proliferation and DNA synthesis in the splenic
1650 and thymic lymphocytes of old rats. **Neuro. Endocrinol Lett.** v. 24, n. 3-4, p.
1651 215-223, 2003.
1652

1653 ERTEKIN, V.; SELIMOGLU, M. A.; PIRIM, I. Familial Mediterranean fever in a
1654 childhood population in eastern Turkey. **Pediatr Int.**, v. 47, p. 640-644, 2005.
1655

1656 ESPOSITO, K.; PONTILLO, A.; GIUGLIANO, F.; GIUGLIANO, G.; MARFELLA,
1657 R.; NICOLETTI, G.; GIUGLIANO, D. Association of low interleukin-10 levels
1658 with the metabolic syndrome in obese women. **J Clin Endocrinol Metab.**, v.
1659 88, p.1055–1058, 2003.
1660

1661 FANTUZZI, G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. **J. Allergy Clin.**
1662 **Immunol.**v.115, n.5, p.911-919, 2005.
1663

1664 FEOLI, A.M.; ROEHRIG, C.; ROTTA, L.N.; KRUGER, A.H.; SOUZA, K.B.;
1665 KESSLER, A.M. RENZ, S.V.; BRUSQUE, A.M.; SOUZA, D.O.; PERRY, M.L.S.
1666 Serum and liver lipids in rats and chicks fed with diets containing different oils.
1667 **Nutr.** v. 19, p.789-793, 2003.

1668 FERRARA, N.; DAVIS-SMYTH, T. The biology of vascular endothelial growth
1669 factor. **Endocr Rev**, v.18, n. 1, p. 4-25, 1997.
1670
1671 FETITA, L.S.; SOBNGWI, E.; SERRADAS, P.; CALVO, F.; GAUTIER, J.F.
1672 Review: Consequences of fetal exposure to maternal diabetes in offspring. **J.**
1673 **Clin. Endocrinol Metab.**v. 10, n. 91, p. 3718-3724, 2006.
1674
1675 FONSECA-ALANIZ, M. H.; TAKADA, J.; ALONSO-VALE, M. I. C.; LIMA, F. B.
1676 O Tecido Adiposo Como Centro Regulador do Metabolismo. **Arq. Bras.**
1677 **Endocrinol. Metab.** v. 50, n.2, p. 216-229, 2006.
1678
1679 FONSECA-ALANIZ, M. H.; TAKADA, J.; ALONSO-VALE, M. I. C.; LIMA, F. B.
1680 O tecido adiposo como órgão endócrino: da teoria à prática. **J. Pediatr.**v. 83,
1681 n.5, 2007.
1682
1683 FRANÇA, B. K.; ALVES, M. R. M.; SOUTO, F. M. S.; TIZIANE, L.;
1684 BOAVENTURA, R. F.; GUIMARÃES, A.; ALVES, A. J. Peroxidacão lipídica e
1685 obesidade: Métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos. **J. Port.**
1686 **Gastrenterol.**v.20, n.5, p. 199--206, 2013.
1687
1688 FRANCISCO, G.; HERNÁNDEZ, C.; SIMÓ, R. Serum markers of vascular
1689 inflammation in dyslipidemia.**Clin. Chim. Acta.**v.369, p. 1-16, 2006.
1690
1691 FREDERICH, R.C.; HAMANN, A.; ANDERSON, S.; LÖLLMANN, B.; LOWELL,
1692 B.B.; FLIER, J.S. Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for
1693 diet-induced resistance to leptin action. **Nat. Med.** v. 1, p. 1311-1314, 1995.
1694
1695 FRUHBECK, G.; GÓMEZ-AMBROSI, J.; MURUZABAL, J.; BURREL, M.A. The
1696 adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signalling in
1697 energy metabolism regulation. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metabol.** v. 280,
1698 p.827-847, 2001.
1699
1700 FUCHS, L. F. P.; GUIMARAES, C. R.; MAGANHIN, C. C.; SIMÕES, R. S.;
1701 BARACAT, M. C. P.; SMITH, J. M. J.; BARACAT, E. C. Melatonin action in
1702 apoptosis and vascular endothelial growth factor in adrenal cortex of
1703 pinealectomized female rats. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.** v. 32, p. 374-380,
1704 2010.
1705
1706 GOMES, F.; TELO, D.; SOUZA, H. P. S; NICOLAU, J. C.; HALPERN, A.;
1707 SERRANO JR, C. V.; Obesidade e doença arterial coronariana: papel da
1708 inflamação vascular. **Arq. Bras. Cardiol.** v. 94, n.2, 2010.
1709
1710 GOTOH, K.; INOUE, M.; MASAKI, T.; CHIBA, S.; SHIRAISHI, K.; SHIMASAKI,
1711 T. Obesity-related chronic kidney disease is associated with spleen-derived IL
1712 10. **Neph. Dialysis Transp.** v.28, n.5, p.1120-1130, 2013.
1713
1714 GRENHA, A. I.; ALVES, F.; RIBEIRO, F.; CAVACO, T. Obesidade e
1715 imunodepressão – Fatos e números. **Arq.Med.** v. 27, n.5, 2013.
1716

1717 HALES, C.N.; BARKER, D.J.P. The thrifty phenotype hypothesis. **Bri. Med. Bull.**
1718 v. 60. p. 5-20, 2001.
1719

1720 HALL, J.E.; JONES, D.W.; KUO, J.J.; SILVA, A.; TALLAM, L.S.; LIU, J. Impact
1721 of the obesity epidemic on hypertension and renal disease. **Curr. Hypertens.**
1722 **Rep.** v. 5, p. 386-392, 2003.
1723

1724 HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. Free Radicals in Biology and Medicine,
1725 3° ed. **Clarendon Press**, 1989.
1726

1727 HANAUER, S. B.; FEAGAN, B. G.; LICHTENSTEIN, G. R.; MAYER, L. F.;
1728 SCHREIBER, S.; COLOMBEL, J. F.; RACHMILEWITZ, D.; WOLF, D. C.;
1729 OLSON, A.; BAO, W.; RUTGEERTS, P. Maintenance Infliximab for Crohn's
1730 Disease: The accent Randomised Trial. **Lancet.** v. 359, p. 1541-1549, 2002.
1731

1732 HARDELAND, R.; CARDINALI, D.P.; SRINIVASAN, V.; SPENCE, D.W.;
1733 BROWN, G.M.; PANDI-PERUMAL, S.R. Melatonin—a pleiotropic, orchestrating
1734 regulator molecule. **Prog. Neurobiol.** v. 93, p.350-384, 2011.
1735

1736 HIRIART, B. M.; MORFFIZ, Y. S.; TORRES, K. U.; MICHELL, Y. D. T.; SOSA,
1737 J. L. B. Hormona de la oscuridad. ÍNDICE CONTENTS. Hormona de
1738 la oscuridad. **Rev. Latinoamer. Patol. Clin.** v. 59, n. 4, p. 222-232, 2012.
1739

1740 HUKSHORN, C. J.; SARIS, W. H.; WESTERTERPPLANTENGA, M. S.; FARID,
1741 A. R.; SMITH, F. J.; CAMPFIELD, L. A. Weekly subcutaneous pegylated
1742 recombinant native human leptin (PEGOB) administration in obese men. **J.**
1743 **Clin. Endocrinol. Metab.** v. 85, n.11, p. 4003-4009, 2000.
1744

1745 HUSSAIN, S.A.R. Effect of melatonin on cholesterol absorption in rats. **J.**
1746 **Pineal Res.** v. 42, p.267-271, 2007.
1747

1748 HUXLEY, R.; MENDIS, S.; ZHELENZNYAKOV, E; REDDY, S; CHAN, J. Body
1749 mass index waist circumference and waist : hip ratio as predictors of
1750 cardiovascular risks – a review of the literature BMI WC and WHR as predictors
1751 of cardiovascular risks. **Eur. J. Clin. Nutr.** v.64, n. 1, p.16-22, 2010.
1752

1753 IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de Orçamentos
1754 Familiares, 2008-2009: Antropometria e estado nutricional de crianças,
1755 adolescentes e adultos do Brasil. Rio de Janeiro: **IBGE**, 2010.
1756

1757 JARZYNKA, M. J.; PASSEY, D. K.; IGNATIUS, P. F.; MELAN, M. A.; RADIO, N.
1758 M.; JOCKERS, R.; RASENICK, M. M.; BRYDON, L.; WITT-ENDERBY, P. A.
1759 Modulation of melatonin receptors and G-protein function by microtubules. **J.**
1760 **Pineal Res.** v. 41, p. 324–336, 2006.
1761

1762 JIANG, T.; WANG, Z.; PROCTOR, G.; MOSKOWITZ, S.; LIEBMAN,
1763 S.E.; ROGERS, T.; LUCIA, M.S.; LI, J.; LEVI, M. Diet-induced obesity in
1764 C57BL/6J mice causes increased renal lipid accumulation and

1765 glomerulosclerosis via a sterol regulatory element-binding protein-1c-dependent
1766 pathway. **J. Bio. Chem.** v. 280, n. 37, p. 32317-32325, 2005.
1767
1768 JOHNSON, B. A.; KREMER, P.J.; SWINBURN, B.A.; DE SILVA-SANIGORSKI,
1769 A.M. Multilevel analysis of the Be Active Eat Well intervention: environmental
1770 and behavioural influences on reductions in child obesity risk. *Int J Obes.*, v.36,
1771 n.7, p.901-7, 2012.
1772
1773 JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histol. Bas.** 10ª edição – Editora
1774 Guanabara-Koogan, 2013.
1775
1776 KAHN, B. B.; J. S. FLIER. Obesity and insulin resistance. **J. Clin. Invest.** v.106,
1777 n. 4, p. 473-81. 2000.
1778
1779 KARBOWNIK, M.; REITER, R.J. Antioxidative effects of melatonin in protection
1780 against cellular damage caused by ionizing radiation. . **Proc. Soc. Exp. Biol.**
1781 **Med.** v. 225, p.9-22, 2000.
1782
1783 KATZUNG, BERTRAM G.; MASTERS, SUSAN B.; TREVOR, Anthony J.
1784 **Fisiologia Médica de Ganong.** AMGH Editora, 2014.
1785
1786 KERSHAW, E.E.; FLIER, J.S. Adipose Tissue as an Endocrine Organ. **J. Clin.**
1787 **Endocrinol. Metab.** v.89, n.6, p.2548-2556, 2004.
1788
1789 LAGO, F.; DIEGUEZ, C.; GÓMEZ-REINO, J.; GUALILLO, O. The emerging role
1790 of adipokines as mediators of inflammation and immune responses. **Cytokine**
1791 **Growth Factor Ver.** v.18, n. 3-4, p. 313–25, 2007.
1792
1793 LAMAS, O.; MARTÍNEZ, J.A.; MARTI, A. Decreased splenic mRNA expression
1794 levels of TNF-alpha and IL-6 in diet-induced obese animals. **J. Physiol.**
1795 **Biochem.** v.60, p. 279–283, 2004.
1796
1797 LANGIN, D. Recruitment of brown fat and conversion of white into brown
1798 adipocytes: strategies to fight the metabolic complications of obesity? **Biochim.**
1799 **Biophys. Acta**, v. 1801, n. 3, p. 372-376, 2010.
1800
1801 LEITE, L.D.; ROCHA, E.D.M.; BRANDÃO-NETO, J. Obesidade: uma doença
1802 inflamatória. **Rev. Ciência & Saúde.** v. 2, n.2, p.85-95, 2009.
1803
1804 LEITE, B. F.; JAMAR, G.; CARANTI, D. A. Efeito dos ácidos graxos na
1805 Síndrome Metabólica: uma revisão de literatura. **Nutrire: Rev. Soc. Bras.** v.
1806 39, n. 1, p. 113-129, São Paulo, 2014.
1807
1808 LIMA, F. B.; MACHADO, U. F.; BARTOL, I.; SERAPHIM, P. M.; SUMIDA, D. H.;
1809 MORAES, S. M. F.; HELL, N. S.; OKAMOTO, M. N. O.; SAAD, M. J.
1810 CARVALHO, C. R. O.; CIPOLLA – NETO, J.; Pinealectomy causes glucose
1811 intolerance and decreases adipose cell responsiveness to insulin in rats. **Am. J.**
1812 **Physiol.** v. 275, p. E934-E941, 1998.
1813

1814 LIMA, F.B.; MATSUSHITA, D.H.; HELL, N.S.; DOLNIKOFF, M.S.; OKAMOTO,
1815 M.M.; CIPOLLA-NETO, J. The regulation of insulin action in isolated
1816 adipocytes. Role of the periodicity of food intake, time of the day, and
1817 melatonin. **Braz. J. Med. Biol. Res.** v. 27, p.995-1000, 1994.
1818

1819 LIU, Y.; WANG, D.; ZHANG, D.; LV, Y.; WEI, Y.; WU, W.; ZHOU, F.; TANG, M.;
1820 MAO, T.; LI, M.; JI, B. Inhibitory effect of blueberry polyphenolic compounds on
1821 oleic acid-induced hepatic steatosis in vitro. **J. Agric. Food Chem.** v.59, n.22,
1822 p.12254-12263, 2011.
1823

1824 LOMBARDO, E.; VAN ROOMEN, C.P.A.A.; VAN PUIJVELDE, G.H.;
1825 OTTENHOFF, R.; VAN EIJK, M.; ATEN, J.; KUIPER, J.; OVERKLEEF, H.S.;
1826 GROEN, A.K.; VERHOEVEN, A.J.; AERTS, J.M.F.G.; BIETRIX, F. Correction of
1827 Liver Steatosis by a Hydrophobic Iminosugar Modulating Glycosphingolipids
1828 Metabolism. **PLoS ONE**, v.7, n.10, p. 38520, 2012.
1829

1830 LOPES, H. F. Hipertensão e inflamação: papel da obesidade. **Rev. Bras.**
1831 **Hipertens.** v.14, n.4, p. 239-244, 2007.
1832

1833 LORENZETI, F. M.; LIMA, W. P.; ZANUTO, R.; CARNEVALI, L. C. J.;
1834 CHAVES, D. F. S.; LANCHI, A. H. J. O exercício físico modulando alterações
1835 hormonais em vias metabólicas dos tecidos musculoesquelético, hepático e
1836 hipotalâmico relacionado ao metabolismo energético e consumo alimentar.
1837 **Fisiol.** v. 10, n.3, 2011.
1838

1839 MAEDA, S.; TANABE, T.; OTSUKI, T.; SUGAWARA, J.; IEMITSU, M.;
1840 MIYAUCHI, T.; KUNO, S.; AJISAKA, R.; MATSUDA, M. Moderate Regular
1841 Exercise Increases Basal Production of Nitric Oxide in Elderly Women.
1842 **Hypertens. Res.** v. 27, n.12, p. 947-953, 2004.
1843

1844 MAGANHIN, C. C.; CARBONEL, A. A. F.; HATTY, J. H.; FUCHS, L. F. P.;
1845 OLIVEIRA-JÚNIOR, I. S. D.; SIMÕES, M. D. J.; SOARES-JR, J. M. Melatonin
1846 effects on the female genital system: a brief review. **Rev. Assoc. Med. Bras.**
1847 v.54, n.3, p. 267-271, 2008.
1848

1849 MARONDE, E.; SAADE, A.; ACKERMANN, K.; GOUBRAN-BOTROS, H.;
1850 PAGAN, C.; BUX, R.; BOURGERON, T.; DEGHANI, F.; STEHLE, J.
1851 H. Dynamics in enzymatic protein complexes offer a novel principle for the
1852 regulation of melatonin synthesis in the human pineal gland. **J. Pineal Res.** v.
1853 51, n. 1, p. 145–155, 2011.
1854

1855 MARTIN, R.M.; MCCARTHY, A.; SMITH, G.D.; DAVIES, D.P.; BEN-SHLOMO,
1856 Y. Infant nutrition and blood pressure in early adulthood: the Barry Caerphilly
1857 Growth study. **Am. J. Clin. Nutr.** v.77, p.1489-1497, 2003.
1858

1859 MARTINS, E.; FERNANDES, L.C.; BARTOL, I.; CIPOLLA- NETO, J.; COSTA
1860 ROSA, L.F. The effect of melatonin chronic treatment upon macrophage and
1861 lymphocyte metabolism and function in Walker-256 tumor-bearing rats. **J.**
1862 **Neuroimmunol.** v. 82, n. 1, p. 81-89, 1998.

1863 MILANSKI, M.; DEGASPERI, G.; COOPE, A.; MORARI, J.; DENIS, R.;
1864 CINTRA, D. E.; TSUKUMO, D. M. L.; ANHE, G.; AMARAL, M. E.; TAKAHASH,
1865 H. K. I; CURI, R.; OLIVEIRA, H. C.; CARVALHEIRA, J. B. C.; BORDIN, S.;
1866 SAAD, M. J.; VELLOSO, L. A. Saturated Fatty Acids Produce an Inflammatory
1867 Response Predominantly through the Activation of TLR4 Signaling in
1868 Hypothalamus: Implications for the Pathogenesis of Obesity. **J. Neurosci.**, v.
1869 29, n.2, p. 359–370, 2009.

1870

1871 MILNER, J.J.; BECK, M. A. The impact of obesity on the immune response to
1872 infection. **Proc. Nutr. Soc.** v. 71, n.2, p.298-306, 2012.

1873

1874 MOLLER, D. E.; K. D. KAUFMAN. Metabolic syndrome: a clinical and molecular
1875 perspective. **Annu. Ver. Med.**, v.56, p.45-62. 2005.

1876

1877 MUOIO, D. M.; NEWGARD, C. B. Mechanisms of disease: molecular and
1878 metabolic mechanisms of insulin resistance and beta-cell failure in type 2
1879 diabetes. **Nat. Ver. Mol. Cell Biol.**, v.9, n.3, p.193-205. 2008.

1880

1881 NAJI, L.; CARRILLO-VICO, A.; GUERRERO, J. M.; CALVO, J. R. Expression of
1882 membrane and nuclear melatonin receptors in mouse peripheral organs. **Life**
1883 **Sci.** v.74, n. 18, p. 2227-2236, 2004.

1884

1885 NASCIMENTO, A. F.; SUGIZAK, M. M.; LEOPOLDO, A. S.; LIMA-LEOPOLDO,
1886 A. P.; LUVIZOTTO, R. A. M.; NOGUEIRA, C. R.; CICOGNA, A. C. A
1887 Hypercaloric Pellet-Diet Cycle Induces Obesity and Co-Morbidities in Wistar
1888 Rats. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.** v. 52, n. 6, p. 968-974, 2008.

1889

1890 NEVES, C.F. Avaliação de biomarcadores de estresse oxidativo e estado
1891 inflamatório em pacientes no pré e pós-operatório de cirurgia da obesidade
1892 **[Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição**
1893 **Humana; Faculdade de Ciências da Saúde, Departamento de**
1894 **nutrição]**. Brasília: Universidade de Brasília, 2010.

1895

1896 O'ROURKE, R.W.; KAY, T.; SCHOLZ, M.H.; DIGGS, B.; JOBE, B.A.;
1897 LEWINSOHN, D.M.; BAKKE, A.C. Alterations in T-cell subset frequency in
1898 peripheral blood in obesity. **Obes. Surg.** v.15, n.10, p.1463-1468, 2005.

1899

1900 OLIVEIRA, T. W. S. Dieta hiperlipídica na gestação e lactação: efeitos sobre
1901 parâmetros metabólicos e do consumo alimentar em ratos adultos. Programa
1902 de Pós graduação em alimentos, nutrição e saúde. **[Dissertação de**
1903 **Mestrado]**. 2010. Disponível em: <http://www.repositorio.ufba.br/ri/handle/ri/9676>
1904

1905 ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Obesidade: prevenindo e controlando
1906 a epidemia global. [Tradução Andréa Favano] São Paulo: Roca, 2004.

1907

1908 ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Obesidade: prevenindo e**
1909 **controlando a epidemia global.** 1.ed. São Paulo, 2000.

1910

- 1911 PANVELOSKI-COSTA, A. C.; PINTO, D. A. C. J.; BRANDÃO, B. B.; MOREIRA,
1912 R. J.; MACHADO, U. F.; SERAPHIM, P. M. Treinamento resistido reduz
1913 inflamação em músculo esquelético e melhora a sensibilidade à insulina
1914 periférica em ratos obesos induzidos por dieta hiperlipídica. **Arq. Bras.**
1915 **Endocrinol. Metab.** v. 55, n.2, 2011.
- 1916
1917 PAPPOLLA, M.A.; POEGGELER, B.; REITER, R.J. La
1918 hipótesisoxidativaenlaenfermedad de Alzheimer. Papel de la melatonina como
1919 antioxidante y como agente antibeta amiloide. **Antioxidantes y Calidad de**
1920 **Vida**, v.8, p.8-19, 2001.
- 1921
1922 PARISE, E. R.; OLIVEIRA, A. C. Importância da resistência insulínica na
1923 hepatite C crônica. **Arq. Gastroenterol.**v.44, n.2, p. 178-184, 2007.
- 1924
1925 PÊGO-FERNANDES, P.M.; BIBAS, B.J.; DEBONI, M. Obesity: the greatest
1926 epidemic of the 21st century? **Med. J.** v. 129, n.5, p. 283-284, 2011.
- 1927
1928 PEKELMANN, R. M.; MONTANI, E. J.; BARBOSA, J.; FERREIRA, Z. S. Ritmos
1929 biológicos: entendendo as horas, os dias e as estações do ano. **Einst.** v. 1, p.
1930 143-148, 2003.
- 1931
1932 PELLEYMOUNTER, M.A.; CULLEN, M.J.; BAKER, M.B.; HECHT, R.;
1933 WINTERS, D.; BOONE, T.; COLLINS, F. Effects of the obese gene product on
1934 body weight regulation in ob/ob mice. **Sci.** v. 269, p.540-543, 1995.
- 1935
1936 PEREIRA, D. S.; TUFIK, S.; PEDRAZZOLI, M. Moléculas que marcam o tempo:
1937 implicações para os fenótipos circadianos, Timekeepingmolecules: implications
1938 for circadianphenotypes. **Rev. Brasileira de psiquiatria.**v. 31, n. 1, p. 63-71,
1939 2009.
- 1940
1941 PEREIRA, Z. R. A suplementação com melatonina promove melhora nas
1942 etapas iniciais da sinalização insulínica no hipotálamo, fígado, músculo
1943 esquelético e tecido adiposo em ratos velhos e obesos, precedendo a perda de
1944 peso. **[Tese de Doutorado]**. Instituto de Ciências Biomédicas, USP, 2009.
- 1945
1946 PESTKA, S.; KRAUSE, C. D.; SARKAR, D.L. Interleukin-10 and related
1947 cytokines and receptors. **Annu Rev Immunol.** v. 22, p. 929–979, 2004.
- 1948
1949 PETRY, C. J.; OZANNE, S.E.; WANG, C.L.; HALES, C. N. Effects of early
1950 protein restriction and adult obesity on rat pancreatic hormone content and
1951 glucose tolerance. **Horm. Metab. Res.** v. 32, n.6, p.233-9, 2000.
- 1952
1953 PICINATO, M. C.; HABER, E. P.; CARPINELLI, A. R.; CIPOLLA-NETO, J.
1954 Daily rhythm of glucose-induced insulin secretion by isolated islets from intact
1955 and pinealectomized rat.**J. Pineal Res.** v. 33, p.172-177, 2002.
- 1956
1957 PIERI, C.; MARRA, M.; MORONI, F.; MARCHISELLI, F; DECHIONI, R.
1958 Melatonin in a efficient antioxidant. **Arch. Gerontology Geriatrics**, v.20,
1959 p.159-165, 1995.

- 1960 PIRKOLA, J.; POUTA, A.; BLOIGU, A.; HARTIKAINEN, A.L.; LAITINEN, J.;
 1961 JARVELIN, M.R.; VAARAS-MAKI, M. Risks of overweight and abdominal
 1962 obesity at age 16 years associated with prenatal exposures to maternal
 1963 prepregnancy overweight and gestational diabetes mellitus. **Diab.Care**, v. 33, p.
 1964 1115–1121, 2010.
- 1965
 1966 PISANI, L. P.; OYAMA, L. M.; BUENO, A. A.; BIZ, C.; ALBUQUERQUE, K. T.;
 1967 RIBEIRO, E. B.; NASCIMENTO, C. M. O. Hydrogenated fat intake during
 1968 pregnancy and lactation modifies serum lipid profile and adipokine mRNA in 21-
 1969 day-old rats. **Nutr**, v. 28, p. 255-261, 2008.
- 1970
 1971 PONTES, G. N. CARDOSO, E. C.; CARNEIRO-SAMPAIO, M. M. S.;
 1972 MARKUS, R. P. Injury switches melatonin production source from endocrine
 1973 (pineal) to paracrine (phagocytes) – melatonin human colostrum and colostrum
 1974 phagocytes. **J. Pineal Res.** v. 41, n. 2, p. 136–141, 2006.
- 1975
 1976 QIAO, D.; HOU, L.; LIU, X.; Influence of intermittent anaerobic exercise on
 1977 mouse physical endurance and antioxidant components. **Br. J. Sports Med.** v.
 1978 40, n.3, p. 214-218, 2006.
- 1979
 1980 RABE, K.; LEHRKE, M.; PARHOFER, K. G.; BROEDL, U. C. Adipokines and
 1981 insulin resistance. **Mol. Med.**, v.14, n.11-12, p.741-51. 2008.
- 1982
 1983 RAMALHO, R.; GUIMARÃES, C. Papel do tecido adiposo e dos macrófagos no
 1984 estado de inflamação crônica associada à obesidade - Implicações Clínicas.
 1985 **Acta Med. Port.**v.21, p.489-496, 2008.
- 1986
 1987 RASHID, M.; ROBERTS, E.A. Nonalcoholic steatohepatitis in children. **J**
 1988 **Pediatr Gastroenterol Nutr.**, v. 30, p. 48-53, 2000.
- 1989
 1990 RASMUSSEN, D.D.; MITTON, D.R.; LARSEN, S.A.; YELLON, S.M. Aging
 1991 dependent changes in the effect of daily melatonin supplementation on rat
 1992 metabolic and behavioral responses. **J. Pineal Res.** v.1, p.89-94, 2001.
- 1993
 1994 REIS, J.S.; VELOSO, C.A.; MATTOS, R.T.; PURISH, S.; NOGUEIRA-
 1995 MACHADO, J.A. Estresse Oxidativo: Revisão da Sinalização Metabólica no
 1996 Diabetes Tipo 1. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.** v. 52, p.1096-1105, 2008.
- 1997
 1998 REITER, R. J.; TAN, D. X.; BURKHARDT, S. Reactive oxygen and nitrogen
 1999 species and cellular and organismal decline: amelioration with melatonin. **Mech.**
 2000 **Ageing Dev.** v. 123, n. 8, p. 1007-1019, 2002.
- 2001
 2002 REITER, R. J.; TAN, D. X.; MAYO, J. C.; SAINZ, R. M.; LEON, J.;
 2003 CZARNOCKI, Z. Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanisms and
 2004 pathophysiological implications in humans – **Acta Biochim. Pol.**v. 50, p. 1129-
 2005 1146, 2003.
- 2006
 2007 REITER, R.J. The pineal gland. **Endocrinol. Philad. Sound.Comp.**, v.1, p. 240-
 2008 253, 1989.

2009 REITER, R.J.; ACUÑA-CASTROVIEJO, D.; TAN, D.X.; BURKHARDT, S. Free
2010 radical-mediated molecular damage. Mechanisms for the protective actions of
2011 melatonina in the central nervous system. **Ann N Y Acad. Science**, v.939,
2012 p.200-215, 2001.

2013
2014 RINAUDO, P.; WANG, E. Fetal programming and metabolic
2015 syndrome. **Annu.Rev. Physiol.**, v. 74, p.107–30, 2012.

2016
2017 RONTI, T.; LUPATTELLI, G.; MANNARINO, E. The endocrine function of
2018 adipose tissue: an update. **Clin.Endocrinol.**, v.64, n.4, p.355-65. 2006.

2019
2020 ROSINI, T. C.; DA SILVA, A. S. R.; DE MORAES, C. Obesidade induzida por
2021 consumo de dieta: modelo em roedores para o estudo dos distúrbios
2022 relacionados com a obesidade. **Rev. As. Med. Bra.**, v.58, n.3, p. 383-387, 2012.

2023
2024 RUAN, H.; MILES, P.D.G.; LADD, C.M.; ROSS, K.; GOLUB, T.R. OLEFSKY,
2025 J.M; LODISH, H. F. Profiling gene transcription in vivo reveals adipose tissue as
2026 as immediate target of tumor necrosis factor- α : implications for insulin
2027 resistance. **Diab.** v. 5, p. 3176-3188 2002.

2028
2029 RYAN, T.P.; AUST, S. D. The role of iron in oxygen-mediated toxicities. **Crit.**
2030 **Rev. Toxicol.** v. 22, p.119-141, 1992.

2031
2032 SAMUELSSON, A.M.; MATTHEWS, P.A.; ARGENTON, M.; CHRISTIE, M.R.;
2033 MCCONNELL, J.M.; JANSEN, E.H.; PIERSMA, A.H.; OZANNE, S.E.; TWINN,
2034 D.F.; REMACLE, C.; ROWLERSON, A.; POSTON, L.; TAYLOR, P.D. Diet-
2035 induced obesity in female mice leads to offspring hyperphagia, adiposity,
2036 hypertension, and insulin resistance: a novel murine model of developmental
2037 programming. **Hypert.**, v. 51, p. 383–392, 2008.

2038
2039 SILVA, A. A.; CARMO, J.; DUBINION, J.; HALL, J.E. The role of the sympathetic
2040 nervous system in obesity-related hypertension. **Curr.Hypertens. Rep.** v. 11,
2041 n.3, p. 206-211, 2009.

2042
2043 SIMEONI, U.; BARKER, D. J. Offspring of diabetic pregnancy: Long-term
2044 outcomes. **Semin. Fetal Neonatal Med.**, v.14, p. 119–124, 2009.

2045
2046 SLOMINSKI, R. M.; REITER, R. J.; SCHLABRITZ-LOUTSEVITCH, N.;
2047 OSTROM, R. S.; SLOMINSKI, A. T. Melatonin membrane receptors in
2048 peripheral tissues: Distribution and functions. **Mol. Cell. Endocrinol.** v. 351, n.
2049 2, p. 152-166, 2012.

2050
2051 SMITH, S. R.; DE JONGE, L.; ZACHWIEJA, J. J.; ROY, H.; NGUYEN, T.;
2052 ROOD, J. C.; BRAY, G. A. Fat and carbohydrate balances during adaptation to
2053 a high-fat diet. **The American journal of clinical nutrition.** v. 71(2), p. 450-
2054 457, 2000.

2055
2056 SOUZA, M.; BRÁZ-SILVA, C.; LEITE-MOREIRA, A. O papel da leptina na
regulação da homeostasia energética. **Acta Med. Port.** v.22, p.291-198, 2009.

2057 STEPPAN, C. M.; BROWN, E. J.; WRIGHT, C.M.; BHAT, S.; BANERJEE, R.
2058 R.; DAI, C.Y.; ENDERS, G. H.; SILBERG, D. G.; WEN, X.; WU, G. D.; LAZAR,
2059 M. A. A Family of tissue-specific resistin-like molecules. **Proc. Natl. Acad. Sci.**
2060 v. 98, n.2, p. 502-506, 2001.

2061
2062 STRANAHAN, A.M.; CUTLER, R.G.; BUTTON, C.; TELLJOHANN, R.;
2063 MATTSON, M.P. Diet-induced elevations in serum cholesterol are associated
2064 with alterations in hippocampal lipid metabolism and increased oxidative stress.
2065 **J. Neurochem.** v. 118(4), p. 611-615, 2011.

2066
2067 SWINBURN, B.A.; SACKS, G.; HALL, K.D.; MCPHERSON, K.; FINEGOOD,
2068 D.T.; MOODIE, M.L.; GORTMAKER, S. L. The global obesity pandemic:
2069 shaped by global drivers and local environments. **Lancet.**v.378, p. 741-746,
2070 2011.

2071
2072 TAN, D.; REITER, R. J.; MANCHESTER, L. C.; YAN, M.; EL-SAWI,M.; SAINZ,
2073 R. M.; MAYO, J.C.; KOHEN, R.; ALLEGRA,M.C.; HARDELAND,R. Chemical
2074 and physical properties and potential mechanisms:melatonin as a broad
2075 spectrum antioxidant and free radical scavenger. **Curr.Top.Med. Chem.** v. 2,
2076 n.2, p.181-197, 2002.

2077
2078 TAN, D.X.; CHEN, L.D.; POEGGELER, B.; MANCHESTER, L.C.; REITER, R.J.
2079 Melatonin: a potent, endogenous hydroxyl radical scavenger. **J.Endocr**, v.1,
2080 p.57-60, 1993.

2081
2082 TAN, D.X.; REITER, R.J.; MANCHESTER, L.C.; YAN, M.T.; EL-SAWI, M.;
2083 SAINZ, R.M.; MAYO, J.C.; KOHEN, R.; ALLEGRA, M.; HARDELAND, R.
2084 Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a
2085 broad-spectrum antioxidant and free radical scavenger. **Curr.Top.Med. Chem.**
2086 v.2, p.181-197, 2002.

2087
2088 TAYLOR, P. D.; MCCONNELL, J.; KHAN, I. Y.; HOLEMANS, K.; LAWRENCE,
2089 K. M.; ASARE-ANANE, H.; PERSAUD, S. J.; JONES, P. M.; PETRIE, L.;
2090 HANSON, M. A.; POSTON, L. Impaired glucose homeostasis and mitochondrial
2091 abnormalities in offspring of rats fed a fat-rich diet in pregnancy. **Am. J.**
2092 **PhysiolRegul. Integr.Comp. Physiol.** v. 288, n. R134-R139, 2005.

2093
2094 TILG, H., MOSCHEN, A.R. Role of adiponectin and PBEF/ visfatin as regulators
2095 of inflammation: involvement in obesity-associated diseases. **Clin.Sci (Lond).**
2096 v. 114, n.4, p.275-288, 2008.

2097
2098 TOMÁS-ZAPICO, C.; COTO-MONTES, A.A proposed mechanism to explain
2099 the stimulatory effect of melatonin on antioxidative enzymes.**J. Pineal Res.**
2100 v.39, p. 99-104, 2005.

2101
2102 TRAYHURN, P.; WOOD, I. S. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role
2103 of white adipose tissue. **Br. J. Nutr.** v. 92, n.3, p. 347-55, 2004.

2104

2105 TSCHOP, M.; HEIMAN, M.L. Rodent obesity models: an overview. **Exp. Clin.**
2106 **Endocrinol. Diabetes.** v.109, n. 6, p.307-19, 2001.
2107
2108 **VIGITEL Brasil 2011:** vigilancia de fatores de risco e proteção para doenças
2109 crônicas por inquerito telefonico. Brasilia, 2012.
2110
2111 WANG, X.X.; JIANG, T.; SHEN, Y.; ADORINI, L.; PRUZANSKI, M.; FRANK, J.;
2112 SCHERZER, P.; LEWIS, L.; MIYAZAKI-ANZAI, S.; LEVI, M. The farnesoid X
2113 receptor modulates renal lipid metabolism and diet-induced renal inflammation,
2114 fibrosis, and proteinuria. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.**, v. 297, p.1587-1596,
2115 2009.
2116
2117 WATERS, K.A.; MAST, B.T.; VELLA, S.; DE LA EVA, R.; O'BRIEN,
2118 L.M.; BAILEY, S.; TAM, C. S.; WONG, M.; BAUR, L.A. Structural equation
2119 modeling of sleep apnea, inflammation, and metabolic dysfunction in children. **J**
2120 **Sleep Res.**, v. 16, p. 388–395, 2007.
2121
2122 WEST, D. B.; YORK, B. Dietary fat, genetic predisposition, and obesity: lessons
2123 from animal models. **Am. J. Clin. Nutr.** v. 67, p. 505-512, 1998.
2124
2125 WISSE, B. E.; KIM, F.; SCHWARTZ, M. W. Physiology.An integrative view of
2126 obesity.**Sci.**, v.318, n.5852, p.928-9. 2007.
2127
2128 WORLD HEALTH ORGANIZATION.Bod mass indexclassification – report of a
2129 WHO consultation on obesity. Geneva: **WHO**, 1995. Technical Reports Series
2130 854.
2131
2132 WORLD HEALTH ORGANIZATION.The world health report 2002, reducing
2133 risks, promoting healthy life. Geneva. **WHO**, 2002.
2134
2135 ZANQUETTA, M. M.; SERAPHIM, P. M.; SUMIDA, D. H.; CIPOLLA-NETO, J.;
2136 MACHADO, U. F. Calorie restriction reduces pinealectomy-induced insulin
2137 resistance by improving GLUT4 gene expression. And its translocationto the
2138 plasma membrane.**J. Pineal Res.**, v. 35, n.3, p. 141-148, 2003.
2139
2140 ZHIXIONG, H.; ZHIHONG, S.; SHIMIN, L.; QINGLI, Z.; ZHILIANG, T. Effects of
2141 early malnutrition on mental system, metabolic syndrome, immunity and the
2142 gastrointestinal tract. **J. Vet. Med. Sci.**, v. 71, n. 9, p. 1143–1150, 2009.
2143
2144 ZIMMET, P.; ALBERTI, G.; KAUFMAN, F.; TAJIMA, N.; SILINK, M.;
2145 ARSLANIAN, S.; WONG, G.; BENNETT, P.; SHAW, J.; CAPRIO, S.The
2146 metabolic syndrome in children and adolescents.**Lancet.**v.369, p.2059-2061,
2147 2007.
2148
2149
2150
2151

2152 CAPÍTULO II

2153

2154 Melatonina protege alterações metabólicas e danos hepáticos induzidos por dieta
2155 hipercalórica em ratas prenhes

2156

2157 Solange Bezerra da Silva¹, Clovis Lapa Neto¹, Anísio Francisco Soares¹, Cleyton
2158 Charles Dantas Carvalho², Christina Alves Peixoto³, Amanda Karolina Soares e Silva³,
2159 Valéria Wanderley Teixeira^{1*}, Álvaro Aguiar Coelho Teixeira¹,

2160

2161 ¹ Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Morfologia e
2162 Fisiologia Animal, Recife, Brasil

2163 ² Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina
2164 Veterinária, Recife, Brasil

2165 ³ Universidade Federal de Pernambuco, Laboratório de Ultraestrutura –
2166 CPqAM/FIOCRUZ, Recife, Brasil

2167

2168 *Autor para correspondência: UFRPE-DMFA. Av. Dom Manoel de Medeiros
2169 s/n Dois Irmãos-Recife-PE-Brazil. CEP 52171-900. Tel. +55 81 33206389

2170 E-mail: valeria.wanderley@ufrpe.br (WANDERLEY-TEIXEIRA, V)

2171

2172

2173

2174

2175

2176

2177

2178 **RESUMO**

2179 Baixos custos de alimentos palatáveis e calóricos, aliados ao sedentarismo
2180 aumentam a atividade lipogênica e o influxo de ácidos graxos livres para o fígado,
2181 alterando parâmetros bioquímicos neste órgão. A melatonina tem sido associada à
2182 redução do peso corporal e ao reestabelecimento dos níveis plasmáticos de leptina e
2183 insulina, entre outros fatores. Assim, avaliou-se parâmetros metabólicos, bioquímicos e
2184 histoquímicos no fígado de ratas prenhes alimentadas com dieta hipercalórica associada
2185 ou não a melatonina. Utilizou-se 40 ratas prenhes divididas nos grupos: I: ratas
2186 submetidas à dieta comum (D); II: ratas submetidas à dieta hipercalórica (DH); III: ratas
2187 submetidas à dieta hipercalórica + melatonina (0,5 mg/kg) (DH+Mel) e IV: ratas
2188 submetidas à dieta comum + melatonina (0,5 mg/kg) (D+Mel). Os resultados revelaram
2189 que ao 7º dia as fêmeas dos grupos DH e DH+Mel apresentaram ganho de peso
2190 corporal. Ao 14º e 21º dia as fêmeas do grupo DH mantiveram essa condição. Não
2191 houve diferenças para a ingestão sólida e líquida ao 7º dia. Porém, ao 14º e 20º dia,
2192 houve elevação desse parâmetro nas fêmeas do grupo DH. Os níveis séricos de ALT,
2193 AST, GAMA GT, fosfatase alcalina, amilase, lipase, frutossamina, colesterol total, LDL,
2194 triglicérides, HDL, glicose e insulina aumentaram aos 7º e 14º dia nas fêmeas do grupo
2195 DH, com exceção dos níveis de amilase que não diferiu entre os grupos (7º dia) e
2196 redução da FA e HDL (14º dia). Nas fêmeas dos grupos tratados com melatonina os
2197 níveis de amilase foram reduzidos. Ao 20º dia, as fêmeas do grupo DH apresentaram o
2198 mesmo comportamento observado ao 14º dia. Porém as fêmeas que receberam a
2199 melatonina exibiram aumento da FA e do HDL, enquanto os demais parâmetros
2200 apresentaram valores reduzidos em relação aos grupos D e DH. A quantidade de lipídios
2201 no fígado, bem como o teor de colágeno foi significativamente elevado nas fêmeas do
2202 grupo DH. Nas fêmeas do grupo DH+Mel houve diminuição significativa na quantidade
2203 de gordura e de colágeno. Os grupos D, DH+Mel e D+Mel não mostraram diferenças
2204 em relação à quantidade de glicogênio hepático, diferindo do grupo DH que apresentou
2205 níveis elevados em relação a estes. Assim, concluímos que a melatonina apresentou
2206 vários efeitos antiobesogênicos durante a prenhez em ratas, reduzindo os efeitos
2207 adversos no fígado causados por uma alimentação hipercalórica.

2208

2209 **Palavras-chave:** Obesidade, melatonina, prenhez, histopatologia, fígado, ratas,
2210 bioquímica.

2211 **ABSTRACT**

2212 Low cost and palatable calorie foods, combined with inactivity increasing the
2213 lipogenic activity and the influx of free fatty acids to the liver, altering biochemical
2214 parameters in this organ. Melatonin has been linked to weight reduction and restoring
2215 plasma leptin and insulin, among other factors. Thus, we evaluated metabolic,
2216 biochemical and immunohistochemical liver of pregnant rats fed with or without
2217 melatonin calorie diet. We used 40 pregnant rats divided into two groups: I: rats
2218 subjected to the common diet (D); II: rats submitted to high calorie diet (DH); III: rats
2219 submitted to high calorie diet + melatonin (0.5 mg / kg) (DH + Mel) and IV: rats
2220 subjected to the common diet + melatonin (0.5 mg / kg) (D + Mel).The results showed
2221 that at day 7 only females of DH and DH + Mel groups showed body weight gain. At
2222 14th and 20st day, the females only of DH group retained this condition. There were no
2223 differences for the solid and liquid intake, the 7th day. However, at 14 and day 20, there
2224 was an increase of this parameter in females of DH group. The serum levels of ALT,
2225 AST, Gamma GT, alkaline phosphatase, amylase, lipase, fructosamine, total
2226 cholesterol, LDL, triglycerides, HDL, glucose and insulin increased at 7 and 14 days
2227 only in females of DH group, with the exception of amylase levels did not differ
2228 between female groups (day 7) and reduction of AF and HDL (14th day). In females of
2229 the groups treated with melatonin only amylase levels were reduced. By day 20, the
2230 females of DH group showed the same behavior observed at 14 days. But females who
2231 received melatonin showed increased FA and HDL, while the other parameters showed
2232 reduced values on the D and DH groups. The amount of lipids in the liver as well as the
2233 collagen content was significantly higher in females of DH group compared to other
2234 groups. In females of DH + Mel group there was a significant decrease in the amount of
2235 fat and collagen. In females of D, DH + Meland D + Mel groups showed no differences
2236 relative to the amount of hepatic glycogen, differing from the females of DH group
2237 which had elevated levels compared to these. Thus, we concluded that melatonin has
2238 presented several antiobesogênicos effects in rats during pregnancy, reducing adverse
2239 effects on the liver caused by a high calorie diet.

2240 **Keywords:** Obesity, melatonin, pregnancy, histopathology, liver, rats, biochemistry.

2241

2242

2243 1. INTRODUÇÃO

2244

2245 A obesidade é definida como uma condição de acúmulo anormal ou excessivo de
2246 gordura no tecido adiposo, atingindo níveis que podem trazer transtornos à saúde
2247 (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2004). Estimativas demonstram que, em
2248 2025, o Brasil será o quinto país do mundo com maior incidência de obesidade em sua
2249 população (DÂMASO, 2001). Os baixos custos de alimentos altamente palatáveis e de
2250 grande densidade calórica aliados ao menor requerimento de atividades físicas na vida
2251 diária fizeram com que a prevalência da obesidade aumentasse em proporções
2252 alarmantes (SWINBURN et al., 2011).

2253 As complicações decorrentes da obesidade podem levar à Síndrome Metabólica
2254 (SM) que se caracteriza pelo desenvolvimento de resistência à insulina e
2255 consequentemente diabetes mellitus tipo 2, dislipidemia, doenças cardiovasculares e
2256 hipertensão arterial, além de doenças ortopédicas, psicossociais e diversos tipos de
2257 câncer (MOLLER; KAUFMAN, 2005; COUTINHO; GENTIL; TORAL, 2008). Obesos
2258 possuem a capacidade de aumentar a atividade lipogênica, aumentando o influxo de
2259 ácidos graxos livres para o fígado e consequentemente levando ao aumento de
2260 triglicerídeos, de LDL-c (lipoproteína de baixa densidade) e de apolipoproteína B,
2261 contribuindo indiretamente para o desenvolvimento de doenças arteriais coronarianas e
2262 esteatose hepática não alcoólica (PIANO; TOCK; DÂMASO, 2009). A doença do
2263 fígado gorduroso não alcoólico (NAFLD) é a causa mais comum de doença hepática no
2264 mundo ocidental (DE ALWIS; DAY, 2008), englobando um espectro de patologias que
2265 vão desde esteatose hepática simples (SZCZEPANIAK et al., 2005) à esteato-hepatite
2266 não-alcoólica (NASH) caracterizada por balonismo celular e fibrose (DOWMAN et al.,
2267 2011).

2268 A progressão da esteatose hepática no fígado está relacionada à ação de citocinas
2269 pró-inflamatórias, à disfunção mitocondrial e ao estresse oxidativo (LEITE; JAMAR;
2270 CARANTI, 2014). Segundo França (2013), vários fatores interferem na suscetibilidade
2271 do indivíduo obeso à presença de lesões oxidativas, merecendo destaque a
2272 hiperglicemia, os elevados níveis de lipídios teciduais, a inflamação crônica, as defesas
2273 antioxidantes inadequadas e a hiperleptinemia.

2274 Estudos realizados por Padilha et al. (2007) em mulheres, mostraram um resultado
2275 obstétrico desfavorável para gestantes obesas, destacando-se o risco de desenvolvimento

2276 das síndromes hipertensivas da gravidez. Outros estudos apontam que aumento do
2277 índice de massa corporal (IMC) pré-gestacional está diretamente relacionado ao maior
2278 risco de ter tais síndromes, podendo este risco ser mediado pela proteína C reativa,
2279 triglicérides, estresse oxidativo, resistência insulínica, disfunção endotelial, função
2280 imune, e outros marcadores de dislipidemia (BODNAR et al., 2007).

2281 Vários estudos apontam que a melatonina, uma indolamina produzida
2282 principalmente pela glândula pineal, participa de uma grande variedade de processos
2283 celulares, neuroendócrinos e neurofisiológicos, incluindo a regulação dos ritmos
2284 circadianos (HIRIART et al., 2012). É um potente agente antioxidante e eliminador de
2285 radicais livres. Regula vários processos fisiológicos no fígado, apresentando receptores,
2286 tanto na membrana quanto na carioteca das células hepáticas (NAJI et al., 2004),
2287 podendo também inibir o crescimento de hepatocarcinomas (CARRILLO-VICO et al.,
2288 2005).

2289 A atividade funcional do tecido adiposo demonstra forte correlação com os ritmos
2290 circadianos. Os níveis circulantes de algumas citocinas produzidas pelo tecido adiposo
2291 branco (TAB) como adiponectina, leptina, IL-6 e TNF- α , apresentam um perfil
2292 oscilatório num período de 24 horas e a desregulação desse ritmo correlaciona-se com
2293 aumento do risco de obesidade (DI LORENZO et al., 2003). Hussain (2007)
2294 demonstrou que a administração de melatonina inibe a absorção de colesterol e poderia
2295 assim auxiliar o tratamento da hipercolesterolemia, por diminuir o colesterol
2296 plasmático, o perfil lipoprotéico e o conteúdo lipídico do fígado.

2297 Considerando estes dados, o presente estudo teve como objetivo avaliar
2298 parâmetros metabólicos, bioquímicos e histoquímicos no fígado de ratas prenhes
2299 alimentadas experimentalmente com dieta hipercalórica associada ou não a melatonina,
2300 e assim, verificar como essa indolamina influencia esses parâmetros.

2301

2302 **2. MATERIAL E MÉTODOS**

2303

2304 Foram utilizadas 40 ratas albinas (*Rattus norvegicus albinus*) com 90 dias de
2305 idade, virgens, pesando 200 ± 20 g, da linhagem Wistar, procedentes do Biotério do
2306 Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, da Universidade Federal Rural de
2307 Pernambuco. O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética
2308 Institucional (CEUA), licença de número: 012/2014. Após a realização de exames

2309 colpocitológicos, as fêmeas que apresentaram três ciclos estrais regulares foram
 2310 acasaladas na proporção de um macho para três fêmeas sempre às 18:00 horas. Às 7:00
 2311 horas do dia seguinte, após a confirmação do acasalamento metade das fêmeas (n=20
 2312 animais) foi alimentada com ração comercial comum padrão adquirida da empresa Prag
 2313 Soluções Comercio e Servicos Ltda Me (Pragsolutions) e água *ad libitum* e a outra
 2314 metade (n=20) recebeu dieta comercial hipercalórica adquirida da mesma empresa e
 2315 água *ad libitum*. Formaram-se assim 4 grupos de matrizes (n=10): Grupo I: ratas
 2316 prenhes submetidas à dieta comum durante a gestação (D); Grupo II: ratas prenhes
 2317 submetidas à dieta hipercalórica durante a gestação (DH); Grupo III: ratas prenhes
 2318 submetidas à dieta hipercalórica associada a administração de melatonina durante a
 2319 gestação (DH+Mel) e Grupo IV: ratas prenhes submetidas à dieta comum associada a
 2320 administração de melatonina durante a gestação (D+Mel). Após o final da gestação (21°
 2321 dia) as fêmeas foram anestesiadas com quetamina (80 mg/kg) e xilazina (20 mg/kg)
 2322 para retirada do fígado. Para eutanásia foi utilizado o aprofundamento da anestesia até a
 2323 dose letal, de acordo com a resolução do CFMV 714/2002.

2324

2325 2.1. Composição Nutricional das Rações

2326

2327 As dietas adquiridas possuem a composição estabelecida nas tabelas abaixo:

2328

2329 Tabela 1 - Dieta HF Integral 60% 5205 cal/Kg - Peletes mais macios

	Composição (%)	Composição (cal/Kg)
Matéria mineral	5,00	0
Proteína bruta	26,00	1040
Extrato etéreo (gordura)	34,50	3105
Fibra bruta	8,00	0
Carboidratos	26,50	1060
	100,00	5205

2330 Tabela 2 - Dieta Controle Integral

	Composição (%)	Composição (cal/Kg)
Matéria mineral	6,00	0
Proteína bruta	22,00	880
Extrato etéreo (gordura)	4,00	360
Fibra bruta	7,00	0
Carboidratos	61,00	2440
	100,00	3680

2331

2332 **2.2. Administração da Melatonina**

2333

2334 A administração da melatonina foi realizada nas fêmeas dos grupos DH+Mel e
2335 D+Mel de acordo com o protocolo estabelecido por KIM et al. (1998). A dose de
2336 melatonina (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo., USA) administrada foi de 0,5 mg/Kg,
2337 dissolvida diariamente em 100 microlitros de álcool, diluída em 300 microlitros de soro
2338 e aplicada às 18:00 horas por via intraperitoneal.

2339

2340 **2.3. Bioensaio**

2341

2342 **2.3.1. Metabolismo das matrizes durante a gestação**

2343

2344 As fêmeas de todos os grupos experimentais foram pesadas e acomodadas em
2345 gaiolas metabólicas individuais, onde permaneceram por 24 horas para avaliação da
2346 ingesta líquida e sólida. Foi oferecida uma quantidade padronizada de 25 g de ração e
2347 100 mL de água para cada animal. Após as 24 horas, as fêmeas foram pesadas, bem
2348 como mensuradas a quantidade de sobra de ração, água e volume urinário. A avaliação
2349 foi realizada três vezes por semana até o vigésimo dia de gestação (Adaptado de
2350 LERCO et al. 2003).

2351

2352 **2.3.2. Dosagens bioquímicas das matrizes durante a gestação**

2353

2354 Após jejum de 12 horas, 1 mL de sangue de cinco fêmeas de cada grupo
2355 experimental foi coletado em tubo com gel separador de soro para bioquímica, no 7º,
2356 14º e 20º dia de prenhez por meio de contenção mecânica (FLUTTERT et al., 2000),
2357 através da punção da veia caudal lateral com uso de cateter (24G). O sangue foi
2358 homogeneizado por inversão de 5 a 8 vezes para evitar hemólise, mantido em repouso
2359 na posição vertical por 30 minutos para retrair o coágulo e em seguida, centrifugado
2360 (500 G) durante 10 minutos para retirada do soro. O soro foi armazenado em freezer -80
2361 °C até o momento das dosagens. Para este fim, utilizou-se kits da Labtest®, segundo os
2362 catálogos (referências) especificados: Colesterol total (76-2/100), HDL (86-2/30), LDL
2363 (129-1/80), Triglicerídeos (87-2/100), Glicose (133-1/500), AST (109-4/30), ALT (108-
2364 4/30), Gama GT (105-2/30), Fosfatase Alcalina (79-4/30), Lipase (107-3/16), Amilase

2365 (142-2/30) e Frutosamina (97-6/15). As amostras foram analisadas em triplicata em um
2366 analisador bioquímico automático (Labmax 240) no Laboratório de Patologia clínica da
2367 UFRPE.

2368

2369 **2.3.3. Histoquímica do fígado**

2370

2371 O fígado das fêmeas foi coletado após o período gestacional para avaliação da
2372 quantidade de gordura, glicogênio e colágeno neste órgão. Para detecção específica de
2373 lipídios, cinco amostras por grupo de tecido hepático foram fixadas em paraformaldeído
2374 a 4% por 2h, postas “overnight” em concentrações crescentes de sacarose e embebidas
2375 em O.C.T (Tissue-Tek, Zoeterwoude, Netherlands) na presença de nitrogênio líquido.
2376 Posteriormente, foram feitos cinco cortes/grupo de 8 µm de espessura no criostato. As
2377 lâminas foram fixadas com solução de formaldeído puro por 15 minutos, contracoradas
2378 com hematoxilina por 30 segundos para marcar os núcleos das células, lavadas com
2379 água destilada e coradas com Oil Red O durante 15 minutos. Foram observados cinco
2380 campos em cada lâmina.

2381 Para avaliar o teor de colágeno e glicogênio, fragmentos hepáticos foram
2382 dissecados e fixados em solução contendo formalina a 10% tamponada por 24 horas.
2383 Posteriormente, as amostras foram submetidas à desidratação em soluções de
2384 concentração crescente de etanol, dois banhos de tolueno e incluídos em parafina. As
2385 avaliações foram realizadas com o auxílio de um Microscópio Leica DM 500 acoplado
2386 com câmera Leica ICC50 HD e software LAS EZ 4.3. Para a detecção do colágeno, as
2387 lâminas foram pré-tratadas com xileno para remoção de parafina e hidratadas com série
2388 decrescente de etanol. Em seguida, os cortes foram corados em 1% de solução Sirius
2389 Red em ácido pícrico saturado durante 2 horas. Após esse processo, as lâminas foram
2390 desidratadas em concentrações crescentes de etanol, clareadas em xileno, e montadas
2391 em bálsamo do Canadá sintético. Para detecção do glicogênio foi utilizada a técnica de
2392 coloração pelo Ácido Periódico de Schiff. Para cada técnica, cinco imagens/grupo, com
2393 a mesma ampliação, foram analisadas para a quantificação do glicogênio por meio do
2394 software Gimp 2.6 (GNU Image Manipulation Programa, as plataformas UNIX).

2395

2396

2397

2398 **2.4. Análise Estatística**

2399

2400 Os dados do ganho de peso, ingesta sólida e líquida, além dos parâmetros
2401 bioquímicos foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, onde as
2402 médias obtidas foram comparadas pelo teste de Wilcoxon Mann-Whitney ($p < 0,05$).
2403 Para a quantificação de lipídios, colágeno e glicogênio hepático, os grupos foram
2404 comparados pelo teste de variância de uma via (ANOVA-one way), seguido por pós-
2405 teste de Dunnet e Tukey, para comparações múltiplas, utilizando o programa GraphPad
2406 Prism (San Diego, CA, USA). Foram consideradas significativas as diferenças com $p <$
2407 $0,05$. Os dados foram apresentados como a média \pm erro padrão.

2408

2409 **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

2410

2411 **3.1. Parâmetros Metabólicos**

2412

2413 Os parâmetros metabólicos representados pelo ganho de peso, ingesta sólida e
2414 ingesta líquida encontram-se representados na figura 1. Ao 7º dia de prenhez, a análise
2415 estatística demonstrou que as fêmeas dos grupos D e D+Mel diferiram das fêmeas dos
2416 grupos DH e DH + Mel, as quais apresentaram ganho de peso corporal. Ao 14º e 20º de
2417 prenhez, apenas as fêmeas do grupo DH mantiveram essa condição, diferindo das
2418 demais. Várias pesquisas demonstram a capacidade de dietas hipercalóricas conduzirem
2419 ao desenvolvimento de obesidade e ganho de peso. Panveloski-Costa et al. (2011)
2420 utilizando ratos Wistar com dois meses de idade alimentados com esse tipo de dieta,
2421 observaram um aumento significativo no ganho de peso dos animais a partir da terceira
2422 semana de oferta quando comparados aos alimentados com dieta padrão. Da Silva et al.
2423 (2010), em estudos com ratos Wistar tratados com dieta hipercalórica durante três meses
2424 observaram que estes aumentaram aproximadamente 1,4 vez a massa corporal quando
2425 comparados com animais-controle. Moura et al. (2012), observou elevação do peso
2426 corporal, dos ácidos graxos livres hepáticos e diminuição da sensibilidade à insulina,
2427 após oferta durante dois meses de dieta hiperlipídica/hipercalórica à ratos adultos,
2428 demonstrando sinais típicos de doença hepática gordurosa não-alcoólica. No presente
2429 trabalho encontramos resultados semelhantes para as fêmeas dos grupos alimentados
2430 com dieta hipercalórica já durante a primeira semana de gestação. Porém, durante a

2431 segunda e terceira semana, as fêmeas do grupo DH+Mel restabeleceu o padrão normal
2432 de peso, tornando-se semelhante às fêmeas dos grupos D e D+Mel. De acordo com
2433 Cipolla-Neto et al. (2014), a melatonina regula aspectos biológicos dos adipócitos que
2434 influenciam o metabolismo energético, lipídemia e peso corporal como, por exemplo,
2435 lipólise, diferenciação dos adipócitos e captação de ácidos graxos, apresentando um
2436 efeito antiobesogênico. Estudos realizados por Rasmussen et al. (2001) apontam que a
2437 melatonina possui um papel importante na regulação da massa corpórea e balanço
2438 energético, e que a administração do hormônio a ratos adultos (10 meses de idade)
2439 durante doze semanas reduziu o peso corporal sem alterar a quantidade de alimento
2440 ingerido. É importante ressaltar, porém, que as fêmeas do grupo DH tiveram aumento
2441 na ingesta sólida, fator esse que pode ter auxiliado o ganho de peso apresentado pelo
2442 grupo.

2443 Em relação à ingestão sólida e líquida, ao 7º dia de prenhez, as fêmeas dos grupos
2444 não diferiram entre si. Porém, ao 14º dia e 20º, esses parâmetros mostraram-se mais
2445 elevados nas fêmeas do grupo DH, tornando-o estatisticamente diferente das fêmeas dos
2446 demais grupos. Vários estudos demonstram que os mecanismos reguladores do apetite e
2447 da sede encontram-se no hipotálamo. Segundo Duarte et al. (2006), a hiperfagia é uma
2448 característica que pode ser observada quando animais são alimentados com dietas com
2449 elevado teor de gorduras, o que leva a um processo inflamatório no hipotálamo,
2450 interferindo nas vias intracelulares de sinalização pela leptina, resultando em hiperfagia,
2451 diminuição do gasto de energia e, por fim, obesidade. Este hormônio é produzido
2452 proporcionalmente a massa de tecido adiposo, porém, obesos não perdem o apetite
2453 devido ao desenvolvimento de um mecanismo de resistência à leptina por um defeito na
2454 sinalização do seu receptor ou no seu transporte através da barreira hematoencefálica
2455 (FLIER, 2004). A melatonina é capaz de prevenir ou reverter efeitos nocivos da
2456 obesidade e alterações metabólicas como resistência a insulina, resistência a leptina e
2457 desordens cardiovasculares (NDUHIRABANDI, DU TOIT, LOCHNER, 2012).
2458 Alonso-Vale et al. (2005) realizaram pesquisas com adipócitos isolados e observou que
2459 a melatonina exerceu um efeito permissivo, após seis horas de incubação, fundamental
2460 para a ação da insulina sobre a expressão gênica de leptina. A insulina modula eventos
2461 intracelulares por reduzir concentrações citoplasmáticas de AMPc e, este pode ser o
2462 mecanismo pelo qual a insulina regula a expressão da leptina, uma vez que um aumento
2463 do conteúdo intracelular de AMPc leva à diminuição da produção desta adipocina

2464 (DENTON; TAVARE, 1992). A ingesta hídrica por sua vez, é influenciada pela
2465 sensação de sede e pelo aumento de osmolalidade no sangue. Os hormônios
2466 antiuréticos atuam nos túbulos renais, aumentando a reabsorção de água para o sangue
2467 até o retorno da osmolalidade sanguínea (WIDMAIER; RAFF; STRONG, 2013). O
2468 excesso de gordura corporal pode levar à resistência a insulina e conseqüentemente a
2469 hiperglicemia. Nessa condição, segundo Carvalho (2007), parte da glicose passa a ser
2470 eliminada através da urina, aumentando o volume urinário e levando a desidratação e
2471 polidipsia resultante da hiperosmolaridade, provavelmente ocasionando o aumento da
2472 ingesta hídrica observada nas fêmeas do grupo DH durante a segunda e terceira semana
2473 de oferta da dieta hipercalórica. Sabendo-se que a melatonina atua aumentando a
2474 sensibilidade a insulina (LIMA et al., 1994), esses efeitos não foram apresentados pelas
2475 fêmeas do grupo DH+Mel que mostraram-se semelhantes as fêmeas dos grupos D e
2476 D+Mel.

2477

2478 **3.2. Avaliação Bioquímica**

2479 Foram avaliados parâmetros relacionados ao metabolismo energético como:
2480 Níveis séricos de ALT (Alanina transaminase), AST (Aspartato transaminase), Gama
2481 Glutamil Transferase (GAMA GT), FA (fosfatase alcalina), amilase, lipase,
2482 frutossamina, colesterol total, LDL, triglicérides, HDL e glicose. Os resultados estão
2483 apresentados nas tabelas 3,4 e 5.

2484 Ao 7º dia de prenhez as fêmeas do grupo DH diferiram estatisticamente das
2485 demais fêmeas dos grupos experimentais em relação a todos os parâmetros avaliados,
2486 apresentando níveis séricos elevados de todos eles, com exceção dos níveis de amilase
2487 que não diferiu entre as fêmeas dos grupos. Sendo a amilase um marcador de injúrias
2488 pancreáticas, esse resultado mostra que durante a primeira semana de oferta da dieta
2489 hipercalórica esse órgão não sofreu nenhum dano. Ao 14º dia de prenhez, as fêmeas do
2490 grupo DH apresentaram níveis elevados para todos os parâmetros avaliados exceto para
2491 fosfatase alcalina (FA) e HDL. Nas fêmeas dos grupos DH+Mel e D+Mel apenas os
2492 níveis de amilase foram reduzidos em relação as demais fêmeas dos grupos
2493 experimentais, demonstrando um efeito protetor da melatonina sobre o pâncreas. Ao 20º
2494 dia de prenhez, as fêmeas do grupo DH apresentaram o mesmo comportamento
2495 observado ao 14º dia de prenhez. Porém as fêmeas que receberam a melatonina exógena

2496 exibiram aumento da fosfatase alcalina (FA) e do HDL, enquanto os demais parâmetros
2497 apresentaram valores reduzidos em relação às fêmeas dos grupos D e DH.

2498 A elevação sérica de glicose observada nas fêmeas do grupo DH ocorreu
2499 provavelmente devido à sobrecarga de ácidos graxos presentes na dieta hipercalórica,
2500 causando hipertrofia do tecido adiposo. Esse fato associa-se com a produção de
2501 citocinas inflamatórias que podem desencadear hiperglicemia e resistência a insulina
2502 (LIMA-LEOPOLDO et al., 2013). De acordo com Esposito; Cuzzocrea (2010) nas
2503 últimas décadas, uma série de efeitos antiinflamatórios e antioxidantes têm sido
2504 observados quando a melatonina é administrada exogenamente ou adicionada in vivo
2505 em células cultivadas. Hoppe (2009) afirma que a melatonina reduz a ativação de uma
2506 grande variedade de citocinas pró-inflamatórias e também a síntese do óxido nítrico,
2507 amenizando os mecanismos da inflamação. Isso poderia ter reduzido à resistência a
2508 insulina e conseqüentemente a concentração sérica de glicose, efeito esse observado nas
2509 fêmeas do grupo DH+Mel. Picinato et al. (2002) investigaram o pâncreas de ratos e
2510 enfatizaram o papel exercido pela melatonina no controle dos ritmos circadianos
2511 envolvidos na regulação da homeostase da glicose, demonstrando a existência de um
2512 forte ritmo de 24 horas na secreção de insulina.

2513 Estudos sobre o metabolismo da glicose, afirmam que a melatonina diminui a
2514 secreção de insulina das células β pancreáticas (BAZWINSKY-WUTSCHKE, et al.,
2515 2014), enquanto Alonso-Vale et al. (2004) isolando adipócitos de ratos
2516 pinealectomizados, observaram menor tolerância a glicose e menor sensibilidade a
2517 insulina em relação aos animais controle. Lima et al. (1994) incubando adipócitos
2518 isolados do tecido adiposo branco com melatonina, mostraram que esse hormônio
2519 aumenta a sensibilidade a insulina medida através de testes de captação de glicose.
2520 Enfatizando a ação da melatonina sobre a resistência insulínica. De Lima; Reis; De
2521 Lima (2001) demonstraram consideráveis modificações morfológicas e morfométricas
2522 nas células β do pâncreas em animais pinealectomizados, demonstrando a relação
2523 existente entre melatonina e este órgão.

2524 A atividade sérica das enzimas amilase e lipase são utilizadas no diagnóstico de
2525 pancreatites. É sabido que a atividade dessas enzimas pode ser afetada por vários
2526 fatores, incluindo alimentos com deficiência em carboidratos, dietas ricas em gordura e
2527 diabetes (CORRING, 1980; NAKAJIMA et al., 2011). Menores níveis de amilase nas
2528 fêmeas do grupo DH+Mel e D+Mel podem ter ocorrido devido a uma diminuição de

2529 seus níveis, uma vez que sua atividade é dependente dos níveis circulantes de glicose
2530 (PINKE, 2013) e nesses animais também foi observada redução dos níveis glicêmicos,
2531 ao contrário do que ocorreu nas fêmeas do grupo DH que apresentaram níveis elevados
2532 de glicose, amilase e lipase. Nakajima et al. (2011) demonstraram que os níveis séricos
2533 de amilase são inversamente associados com fatores de risco cardiometabólicos,
2534 especialmente aqueles mais associados com a obesidade, atestando o efeito protetor da
2535 melatonina sobre esses aspectos nas fêmeas dos grupos DH+Mel e D+Mel.

2536 Em humanos, a concentração da frutossamina sérica permite uma avaliação do
2537 controle recente dos níveis glicêmicos maternos e são associadas à gravidade e duração
2538 da hiperglicemia no início da gestação (WEERASEKERA; PEIRIS, 2000). A elevação
2539 sérica de seus níveis indica que o controle glicêmico neste período foi inadequado. De
2540 acordo com Cabral (2010) os níveis maternos anormais de frutossamina, mesmo que no
2541 segundo trimestre gestacional, podem ser considerados marcadores de anormalidades
2542 cardíacas fetais. Devido a essa referência, a elevação dos níveis dessa enzima observada
2543 nas fêmeas do grupo DH durante todo o período gestacional requer maior atenção em
2544 relação a sua prole. Em um estudo realizado por Ariclécio (2012) em ratos machos
2545 diabéticos, foi observado que os níveis de frutossamina foram completamente
2546 normalizados pelo tratamento com melatonina, condição esta também observada nas
2547 fêmeas do grupo DH+Mel.

2548 A enzima GAMA GT e as transaminases ALT e AST são indicadores sensíveis de
2549 dano hepático, particularmente quando se trata de uma lesão aguda, sendo a ALT mais
2550 específica, pois esta existe primariamente ao fígado, enquanto a AST pode ser
2551 encontrada em outros tecidos (SCHINONI, 2006). A concentração sérica dessas
2552 enzimas mostrou-se elevada nas fêmeas do grupo DH durante a primeira, segunda e
2553 terceira semanas de gestação, estando nossos achados de acordo com a literatura, pois,
2554 segundo Chaves et al. (2012), uma dieta hipercalórica pode levar a alterações
2555 histopatológicas importantes, causando uma elevação destas enzimas e provocando
2556 alterações na função hepática, que variam de esteatose a esteatohepatite, fibrose e
2557 cirrose. Outro trabalho realizado por da Silva (2014), demonstrou que a dieta
2558 hipercalórica causou hiperglicemia, hipercolesterolemia, aumento nas enzimas ALT e
2559 AST, e achados histopatológicos que definem a Doença Hepática Gordurosa Não-
2560 Alcoólica como, esteatose, inflamação, balonização e fibrose em animais alimentados
2561 com esse tipo de dieta. Segundo Shamir et al. (2008) a hiperglicemia é intimamente

2562 relacionada com distúrbios lipêmicos, como aumento de LDL e Triglicerídeos e redução
2563 de HDL, elevando o risco de doenças cardio e cerebrovasculares.

2564 A enzima FA é produzida por diversos órgãos e tecidos, como por exemplo:
2565 ossos, fígado e placenta (TONUCCI; TOLEDO, 2012) ocorrendo aumentos fisiológicos
2566 durante o crescimento e gravidez. Elevações na sua concentração sérica também podem
2567 ser consideradas preditores confiáveis no desenvolvimento da Doença Hepática
2568 Gordurosa Não-Alcoólica (HANLEY et al., 2005). Esta também funciona como um
2569 marcador altamente sensível de lesão tubular renal associada ao diabetes (HAN et al.,
2570 2008). De acordo com Delmez; Kay (2003) a redução em sua concentração sérica é
2571 indicativa de osteodistrofia renal, termo referente a todos os tipos de doença óssea
2572 decorrentes da insuficiência renal (IR) (NEGREA 2002). Chi-yuan et al. (2006)
2573 observaram que quanto maior o índice de massa corporal maior o risco de
2574 desenvolvimento de doença renal crônica, parâmetro igualmente observado nas fêmeas
2575 do grupo II.

2576 Ainda nessa perspectiva Gugliucci; Kotani; Kimura (2012) afirmaram que na
2577 Insuficiência Renal (IR) também é observada a presença de distúrbios no metabolismo
2578 das lipoproteínas, pois o paciente renal crônico apresenta a tríade aterogênica:
2579 hipertrigliceridemia, aumento sérico do colesterol da lipoproteína de muito baixa
2580 densidade (VLDL) e redução do colesterol das lipoproteínas de alta densidade (HDL),
2581 assim como alterações no metabolismo das apolipoproteínas A e B. De acordo com
2582 Russcher et al. (2012) em humanos com IR, por fatores ainda não esclarecidos, ocorre
2583 uma queda na produção de melatonina noturna, e os pacientes apresentam distúrbios do
2584 sono, levantando a hipótese de que estes exibiriam déficit na produção de melatonina.
2585 Esta provavelmente exerceu um efeito protetor nas fêmeas do grupo DH+Mel que
2586 apresentaram níveis normais para esse parâmetro durante a primeira e segunda semana
2587 de tratamento. Na terceira semana de gestação, porém, seus níveis mostraram-se mais
2588 elevados nas fêmeas do grupos D, DH+Mel e D+Mel, e embora esse dado possa indicar
2589 danos hepáticos, nesses grupos essa hipótese foi descartada, uma vez que as demais
2590 enzimas referenciais (ALT, AST e GAMA GT) mostraram-se dentro da normalidade.
2591 Esse aumento provavelmente ocorreu devido à presença da FA placentária, pois, quanto
2592 maior o tempo de gestação, maior a sua concentração sérica. Segundo Hepburn (2008)
2593 na gravidez normal, os valores de ALT, AST e GAMA GT não se alteram, porém, a

2594 produção placentária de FA, resulta num aumento de duas a quatro vezes o seu valor de
2595 referência.

2596 Relacionado ao metabolismo lipídico, Moura et al. (2012), administraram dieta
2597 desequilibrada semipurificada hipercalórica (5.350 kcal/kg) durante dois meses a ratos
2598 Wistar jovens e observaram aumento nos níveis séricos de ácidos graxos livres. A
2599 elevada ingestão de dietas hipercalóricas e a obesidade também têm sido associadas ao
2600 aumento da produção de espécies reativas ao oxigênio (ROS), levando ao estresse
2601 oxidativo. O estresse oxidativo desempenha um papel central na patogênese e
2602 progressão de doenças hepáticas, e já é bem conhecido o papel da melatonina como um
2603 potente antioxidante, interagindo e neutralizando diretamente ROS através de reações
2604 de transferência única de elétrons e/ou aumentando a atividade e a expressão gênica de
2605 enzimas antioxidantes como glicose 6-fosfato desidrogenase, superóxido dismutase,
2606 catalase, glutathione peroxidase e glutathione reductase (HARDELAND, 2011). Moraes
2607 (2014) induziu um modelo de carcinogênese hepática em ratos e administrou
2608 melatonina após a quinta semana da indução. O estudo demonstrou que o tratamento
2609 com melatonina foi capaz de reduzir as concentrações séricas de ALT e GAMA GT,
2610 desempenhando um papel protetor no fígado desses animais.

2611 Em humanos, a gravidez está associada a alterações fisiológicas importantes do
2612 metabolismo dos lipídios. A primeira alteração é a estimulação da lipólise, fenômeno
2613 progressivo à medida que a gestação evolui. A segunda diz respeito ao aumento
2614 gradativo da concentração dos triglicérides circulantes com a evolução gestacional,
2615 porém, mais constantes no terceiro trimestre da gestação (HERRERA; GOMEZ-
2616 CORONADO; LASUNCION, 1987). De acordo com Cunningham et al. (2001) os
2617 níveis séricos de LDL aumentam ao longo da gestação, com pico na 36^a semana,
2618 provavelmente em consequência dos efeitos hepáticos do estradiol e da progesterona,
2619 enquanto os de HDL elevam-se até um pico na 25^a semana, diminuindo seus níveis até a
2620 32^a e permanecendo constante até o final da gravidez. Dados confirmam que a
2621 melatonina regula vários aspectos da biologia dos adipócitos que influenciam o
2622 metabolismo energético, dislipidemia e peso corporal, como lipólise, lipogênese,
2623 diferenciação dos adipócitos e absorção de ácidos graxos (ALONSO-VALE et al.,
2624 2009).

2625 No presente estudo observou-se elevação dos níveis de colesterol total, LDL e
2626 triglicérides apenas nas fêmeas do grupo DH e esse achado encontra-se de acordo com

2627 pesquisa realizada por Sener (2004) que comprovou que o tratamento com melatonina
2628 reduz os altos níveis de colesterol no plasma e fígado de ratos alimentados com dieta
2629 rica em lipídios. Esse efeito protetor foi observado nas fêmeas do grupo DH+Mel que,
2630 embora alimentados com dieta hipercalórica, tiveram seus níveis séricos de ALT, AST,
2631 GAMA GT, colesterol e triglicerídeos semelhantes as fêmeas do grupos D e D+Mel. As
2632 fêmeas tratadas com melatonina apresentaram aumento na concentração sérica de HDL
2633 e redução do LDL na terceira semana de gestação, demonstrando sua importância no
2634 metabolismo lipídico, uma vez que o HDL contribui para a proteção do leito vascular
2635 contra a aterogênese, pois é responsável pelo transporte de colesterol até o fígado, pela
2636 remoção de lipídios oxidados da LDL, pela inibição da fixação de moléculas de adesão
2637 e monócitos ao endotélio e pela estimulação da liberação de óxido nítrico (XAVIER et
2638 al., 2013). Em acordo com a presente pesquisa estudos realizados por AGIL et al.
2639 (2011) que mostraram que a administração de melatonina melhorou significativamente a
2640 dislipidemia em ratos diabéticos, com redução do colesterol LDL.

2641

2642 **3.3. Histoquímica**

2643 **3.3.1 Avaliação de Lipídio Hepático**

2644 Foi analisada a quantidade de lipídio no fígado através da coloração específica Oil
2645 red O (Figura 2). As fêmeas dos grupos D e D+Mel apresentaram níveis basais de
2646 lipídios, caracterizando um padrão normal. Nos grupos que receberam a dieta rica em
2647 gordura, houve um aumento significativo na quantidade de lipídio das fêmeas do grupo
2648 DH em relação aos demais grupos. A esteatose hepática caracteriza-se
2649 fundamentalmente pela deposição excessiva de gorduras na célula hepática. Há várias
2650 causas, entre elas, obesidade e diabetes. O acúmulo de gordura no fígado é decorrente,
2651 principalmente, da elevação dos ácidos graxos livres na corrente sanguínea, pois caso
2652 não sejam oxidados ou transportados para a circulação em forma de lipoproteínas de
2653 baixa densidade, podem ser sintetizados em triacilgliceróis e depositados nesse órgão
2654 (GOLDBERG; GINSBERG, 2006). Moura et al. (2012) administrando uma dieta rica
2655 em lipídios a ratos jovens observou aumento na atividade lipogênica hepática, na
2656 quantidade de lipídios hepáticos totais e acúmulo de gordura em forma de triglicerídeos
2657 nos fígado. Corroborando com nosso trabalho, estudos realizados por Almeida (2013)
2658 mostraram que ratos alimentados com dieta hipercalórica durante 10 meses

2659 apresentaram uma maior deposição de gotículas de gorduras nos hepatócitos, bem como
2660 os maiores concentrações séricas de triacilgliceróis. Nas fêmeas do grupo DH+Mel
2661 observou-se uma diminuição significativa na quantidade de gordura no tecido hepático
2662 quando comparado as fêmeas do grupo DH, tornando-o estatisticamente semelhante as
2663 fêmeas dos grupos D e D+Mel (Figura 3). Nesse grupo, a melatonina foi capaz de
2664 reduzir a quantidade de lipídios depositada. Em estudo recente, Hussain (2007),
2665 demonstrou que a administração de melatonina inibe a absorção de colesterol e pode ser
2666 um auxiliar no tratamento da hipercolesterolemia, pois diminui o colesterol plasmático,
2667 o perfil lipoprotéico e o conteúdo lipídico do fígado, atestando o papel da melatonina na
2668 redução do acúmulo de gordura nesse órgão.

2669

2670 **3.3.2. Avaliação da Fibrose Hepática**

2671 Foi avaliada a quantidade de colágeno através da coloração específica Sirius red
2672 (Figura 4). As fêmeas do grupo DH apresentaram aumento na quantidade de colágeno
2673 tecidual em comparação às demais fêmeas dos grupos experimentais. As fêmeas do
2674 grupo DH+Mel mostraram-se semelhantes as fêmeas do grupo D, sugerindo uma
2675 atuação benéfica direta da melatonina sobre os possíveis danos que prejudicam o
2676 funcionamento normal do fígado (Figura 5). Devido a esta atuação da melatonina, as
2677 fêmeas do grupo D+Mel mostraram uma redução ainda mais acentuada dos níveis de
2678 colágeno hepático. Segundo Utzschneider; Kahn (2006), se o fígado gorduroso não for
2679 diagnosticado e tratado, pode ocorrer um aumento dos seus tecidos conjuntivos,
2680 conduzindo o órgão à falência. De acordo com Day (2002), existem dois estímulos
2681 capazes de desencadear a gênese do fígado gorduroso: a resistência a insulina,
2682 necessária para o acúmulo de ácidos graxos no hepatócito e a instalação do estresse
2683 oxidativo, levando a peroxidação lipídica, cujos produtos intermediários são
2684 importantes agentes pro-inflamatórios, levando ao desenvolvimento de inflamação e
2685 fibrose. Inclusive um dos produtos finais da peroxidação é o malondialdeído (MDA),
2686 responsável pela ativação da produção de colágeno (LEE et al., 1995). Ambos os
2687 estímulos são frequentemente relacionados ao consumo de dietas hipercalóricas e
2688 obesidade.

2689 A literatura tem reportado os efeitos antifibróticos da melatonina, bem como suas
2690 propriedades em controlar níveis de colágeno nos tecidos (OGETURK et al. 2008). A

2691 ativação de células estreladas hepáticas e a iniciação da síntese de colágeno
2692 desequilibrada são os principais componentes na patogênese que conduz a fibrose.
2693 Dados atuais indicam que estresse oxidativo, peroxidação lipídica e liberação de MDA
2694 estão relacionados com a ativação destas células e esta ativação é bloqueada por
2695 antioxidantes (SVEGLIATI et al., 1998; TAHAN et al., 2004). Rosa et al. (2010)
2696 induziram cirrose em ratos e avaliaram a integridade hepática dos animais quando estes
2697 eram tratados com melatonina. Os resultados mostraram que este hormônio diminuiu o
2698 estresse oxidativo atuando como removedor de radicais livres e fornecendo proteção
2699 antioxidante de biomoléculas. Também reduziu significativamente os níveis de
2700 lipoperoxidação hepática, prevenindo significativamente a deposição de colágeno no
2701 fígado. Esses achados estão de acordo com nossos resultados, onde a melatonina
2702 reduziu a quantidade de colágeno hepático nas fêmeas do grupo DH+Mel.

2703

2704 **3.3.3. Avaliação do Glicogênio Hepático**

2705 As fêmeas dos grupos DH, DH+Mel e D+Mel não diferiram significativamente
2706 entre si em relação à quantidade de glicogênio hepático, que se encontrava elevada,
2707 quando comparada com as fêmeas do grupo D (Figuras 6 e 7).

2708 Estudos realizados por Helge et al. (2001), em humanos, demonstraram que o
2709 consumo de dietas hipercalóricas contribuiu para uma maior oxidação de gorduras,
2710 limitando o uso de carboidratos como substrato energético no trabalho celular. Ainda de
2711 acordo com Carvalho; Colaço; Fortes (2006), dietas hipercalóricas, ricas em gordura
2712 fazem com que os ácidos graxos, depositem-se no fígado na forma de triacilgliceróis.
2713 Isso pode causar a redução do “clearance” hepático de insulina, aumentando a produção
2714 hepática de glicose, uma vez que a insulina é o principal hormônio que inibe a produção
2715 desse carboidrato. Segundo Hou; Pessin (2007) quando ocorre um aumento nos níveis
2716 de substratos energéticos no sangue, como acontece durante a oferta de dietas
2717 hipercalóricas, as células β pancreáticas secretam insulina levando a um aumento dos
2718 transportadores GLUT 4 que estimulam a absorção desses substratos pelas células.
2719 Nesse contexto, Canani et al. (2013), afirmam que, quando a concentração sanguínea de
2720 glicose está alta, o fígado converte glicose em glicogênio e triglicerídeos para
2721 armazenamento; quando a concentração sanguínea de glicose está baixa, o fígado
2722 converte glicogênio em glicose e libera na corrente sanguínea. Esse estudo encontra-se
2723 em acordo com a pesquisa realizada, pois a dosagem bioquímica de glicose mostrou-se

2724 elevada no grupo que recebeu apenas dieta hipercalórica e devido a isso, o fígado desses
2725 animais não liberou glicose, demonstrando acúmulo de grânulos de glicogênio nesse
2726 órgão. Resultados controversos foram encontrados por Bernardes et al. (2004), que
2727 administraram dieta hipercalórica a ratos machos durante oito semanas e observaram
2728 que o conteúdo de glicogênio no fígado apresentou-se diminuído nos animais
2729 hipercalóricos em relação aos normocalóricos.

2730 Estudos sobre o metabolismo da glicose e secreção de insulina pelas ilhotas
2731 pancreáticas sendo moduladas pela melatonina mostram-se contraditórios. Lima et al.
2732 (1998) demonstraram que a melatonina promove uma melhora na captação da glicose,
2733 por aumentar a sensibilidade tecidual à insulina, promovendo alterações na expressão
2734 gênica da proteína transportadora GLUT-4 e que, em animais pinealectomizados, esta
2735 encontra-se reduzida. Em acordo com esse resultado, está a pesquisa realizada por
2736 Mazepa et al. (1999), onde, realizando estudos em ratos exercitados e sedentários, foi
2737 observado que a melatonina possui um efeito poupador dos estoques de glicogênio, e o
2738 conteúdo de glicogênio hepático e muscular mostrou-se aumentado nos animais tratados
2739 com melatonina. Em contradição, Peschke et al. (2007) demonstraram em um estudo
2740 realizado em ratos que a melatonina inibe a secreção de insulina pelas células β
2741 pancreáticas, enquanto Picinato et al. (2002) demonstraram que a melatonina reduz a
2742 secreção de insulina por ilhotas pancreáticas isoladas de animais adultos, porém não
2743 interfere na metabolização da glicose nessas células.

2744 Complementando à importância da melatonina sobre os processos de regulação do
2745 metabolismo energético, foi recentemente demonstrado que a programação metabólica
2746 intra-uterina é modificada pela deficiência de melatonina na gestação. A prole adulta de
2747 fêmeas deficientes de melatonina apresenta intolerância a glicose, resistência à insulina
2748 e uma deficiência grave de secreção de insulina induzida por glicose pelas ilhotas
2749 pancreáticas isoladas. Estes efeitos de programação desaparecem com o cronograma
2750 apropriado de terapia de reposição de melatonina para as mães durante a gestação
2751 (CIPOLLA-NETO et al., 2014).

2752

2753 **4. CONCLUSÃO**

2754

2755 É cada vez mais comum o uso de dietas hipercalóricas por mulheres em idade
2756 reprodutiva e gestantes, de forma que se fazem necessários estudos na busca por

2757 soluções para os problemas causados por esse tipo de dieta rica em açúcares e lipídios.
2758 Na presente pesquisa foi possível observar vários efeitos antiobesogênicos da
2759 melatonina durante a prenhez em ratas, uma vez que este hormônio mostrou-se capaz de
2760 reduzir os efeitos adversos causados por uma alimentação rica em gordura. A
2761 administração diária de melatonina durante a gestação melhorou vários aspectos
2762 relacionados ao metabolismo energético, reduzindo o peso corporal, protegendo o
2763 fígado contra agressões como acúmulo de lipídios e fibrose, e mantendo os níveis
2764 enzimáticos, glicêmicos e lipídicos dentro de padrões adequados ao período gestacional.

2765

2766 **5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

2767

2768 AGIL, A.; NAVARRO-ALARCÓN, M.; RUIZ, R.; ABUHAMADAH, S.;
2769 EL-MIR, M. Y.; VÁZQUEZ, G. F. Beneficial effects of melatonin on obesity and lipid
2770 profile in young Zucker diabetic fatty rats. *Journal of pineal research*. v.50(2), p. 207-
2771 212, 2011.

2772 ALMEIDA, M. E. F. de. Farinha de folhas de cactáceas do gênero *Pereskia*:
2773 caracterização nutricional e efeito sobre ratos wistar submetidos à dieta hipercalórica.
2774 2012. 126 p. Tese (Doutorado em Agroquímica)-Universidade Federal de Lavras,
2775 Lavras, 2012.

2776 ALONSO-VALE, M. I. C.; ANHÊ, G. F.; DAS NEVES BORGES-SILVA, C.;
2777 ANDREOTTI, S.; PERES, S. B.; CIPOLLA-NETO, J.; LIMA, F. B. Pinealectomy
2778 alters adipose tissue adaptability to fasting in rats. *Metabolism*. v.53(4), p.500-50,
2779 2004.

2780 ALONSO-VALE, M. I. C.; PERES, S. B.; VERNOCHE, C.; FARMER, S. R.;
2781 LIMA, F. B. Adipocyte differentiation is inhibited by melatonin through the regulation
2782 of C/EBP β transcriptional activity. *Journal of pineal research*. v. 47(3), p. 221-227,
2783 2009.

2784 ARICLÉCIO CUNHA DE OLIVEIRA. Melatonina, o tratamento com. 2012.
2785 Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

2786 BAZWINSKY-WUTSCHKE, I.; BIESEKE, L.; MÜHLBAUER, E.; PESCHKE,
2787 E. Influence of melatonin receptor signalling on parameters involved in blood glucose
2788 regulation. *Journal of pineal research*. v.56(1), p. 82-96, 2014.

2789 BERNARDES, D.; MANZONI, M. S. J.; DE SOUZA, C. P.; TENÓRIO, N.;
2790 DÂMASO, A. R. Efeitos da dieta hiperlipídica e do treinamento de natação sobre o
2791 metabolismo de recuperação ao exercício em ratos. *Revista Brasileira de Educação*
2792 *Física e Esporte*. v. 18(2), p.191-200, 2004.

2793 BODNAR, L.M.; CATOV, J.M.; KLEBANOFF, M.A.; NESS, R.B.; ROBERTS,
2794 J.M. Pregnancy body mass index and the occurrence of severe hypertensive disorders of
2795 pregnancy. *Epidemiology*. v.18, n.2, p.234-239, 2007.

2796 CABRAL, A. C. V. Rastreamento de cardiopatias congênitas associadas ao
2797 diabetes mellitus por meio da concentração plasmática materna de frutossamina. *Rev*
2798 *Bras Ginecol Obstet*, v. 32, n. 2, p. 66-71, 2010.

2799 CANANI, J. K.; CASSIANO, A.; MATTEI, B. M.; PAGLIA, C. G.; TOMIELO,
2800 F. L.; ZAMBONI, G.; NARDI, A. FISILOGIA HEPÁTICA. *Ação Odonto*, v. 1, n. 1,
2801 p. 11, 2013.

2802 CARRILLO-VICO, A.; CALVO, J. R.; ABREU, P.; LARDONE, P. J.; GARCIA-
2803 MAURIÑO, S.; CHOI, W. S.; CHO, G. J.; WON, C. K.; KOH, P. O. Expression of
2804 melatonin growth factors mRNA in the rat placenta during mid-late pregnancy. *Journal*
2805 *of veterinary science*, v. 6, p. 179-183, 2005.

2806 CARVALHO, A. M. Avaliação do estresse oxidativo em ilhotas pancreáticas
2807 humanas e em cultura de células INS-1E. Tese (Doutorado em Bioquímica)-
2808 Universidade de São Paulo- São Paulo, 2007.

2809 CARVALHO, M.H.C.; COLAÇO, A.L.; FORTES, Z.B. Citocinas, disfunção
2810 endotelial e resistência à insulina. *Arq Bras Endocrinol Metab*. v. 50(2), p. 304-12,
2811 2006.

2812 CHAVES, G. V.; DE SOUZA, D. S.; PEREIRA, S. E.; SABOYA, C. J.; PERES,
2813 W. A. F. Associação entre doença hepática gordurosa não alcoólica e marcadores de
2814 lesão/função hepática com componentes da síndrome metabólica em indivíduos obesos
2815 classe III. *Revista da Associação Médica Brasileira*. v. 58(3), p. 288-293, 2012.

2816 CHI-YUAN, HSU.; MCCULLOCH, C.E.; IRIBARREN,C.; DARBINIAN,J.;
2817 GO, A.S. Body mass index and risk for end-stage renal disease. *Annals of Internal*
2818 *Medicine*, v 144, p 21-28, 2006.

2819 CIPOLLA-NETO, J.; AMARAL, F. G.; AFECHÉ, S. C.; TAN, D. X.; REITER,
2820 R. J. Melatonin, energy metabolism, and obesity: a review. *Journal of pineal research*.
2821 v.56(4), p. 371-381, 2014.

2822 CORRING, T. The adaptation of digestive enzymes to the diet: its physiological
2823 significance. *Reprod. Nurr. Devel.* v.20, p.1217-1235, 1980.

2824 COUTINHO, J. G.; GENTIL, P. C.; TORAL, N. A desnutrição e obesidade no
2825 Brasil: o enfrentamento com base na agenda única da nutrição. *Cad. Saúde Pública*, p.
2826 S332-S340, 2008.

2827 CUNNINGHAM, F.G.; GANT, N.F.; LEVENO, K.G.; GILSTRAP, L.C.;
2828 HAUNT, J.C.; WENSTROM, K.D. *Williams obstetrics*. 21st ed. New York: McGraw-
2829 Hill, 2001.

2830 DA SILVA, A.S.; PAULI, J.R.; ROPELLE, E.R.; OLIVEIRA, A.G.; CINTRA,
2831 D.E.; DE SOUZA, C.T.; VELLOSO, L.A.; CARVALHEIRA, J.B.; SAAD, M.J.
2832 Exercise intensity, inflammatory signaling and insulin resistance in obese rats. *Med Sci*
2833 *Sports Exerc.* v. 42(12),p. 2180-2188, 2010.

2834 DÂMASO, A. *Nutrição e exercício na prevenção de doenças*. Rio de Janeiro,
2835 2001, MEDSI.

2836 DAY, C. P. Non-alcoholic steatohepatitis (NASH): where are we now and where
2837 are we going?. *Gut*, v. 50, n. 5, p. 585-588, 2002.

2838 DE ALWIS N.M.; DAY C.P. Non-alcoholic fatty liver disease: the mist gradually
2839 clears. *J Hepatol* v. 48, Suppl. 1, p.S104–S112, 2008.

2840 DE LIMA, L.M.; REIS, L.C.; DE LIMA, M.A. Influence of the pineal gland on
2841 the hysiology, morphometry and morphology of pancreatic islets in rats. *Braz J Biol.* v.
2842 61(2), p. 333-40, 2001.

2843 DE PIANO, A.; TOCK, L.; DÂMASO, A. Obesidade e esteatose hepática não-
2844 alcoólica. In: Dâmaso A. *Obesidade*. 2º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 31-
2845 49, 2009.

2846 DELMEZ, J.; KAY, J. Doença óssea. In: Daugirdas J, Blake P, Ing T. *Manual de*
2847 *Diálise*, 3a. ed., Belo Horizonte, Medsi, 2003.

2848 DENTON, R. M.; TAVARE, J. M. Mechanisms whereby insulin may regulate
2849 intracellular events. *Insulin molecular biology to pathology*. Oxford University Press,
2850 Oxford, p. 235-262, 1992.

2851 DI LORENZO, L.; DE PERGOLA, G.; ZOCCHETTI, C.; L'ABBATE, N.;
2852 BASSO, A.; PANNACCIULLI, N.; CIGNARELLI, M.; GIORGINO, R.; SOLEO, L.
2853 Effect of shift work on body mass index: results of a study performed in 319 glucose-

2854 tolerant men working in a Southern Italian industry. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*
2855 v.27, p.1353-1358, 2003.

2856 DOWMAN, J.K.; ARMSTRONG, M. J.; TOMLINSON, J. W.; NEWSOME, P.
2857 N. Current therapeutic strategies in non-alcoholic fatty liver disease. *Diabetes Obes*
2858 *Metab* v.13, p.692-702, 2011.

2859 DUARTE, A. C. G. D. O.; FONSECA, D. F.; MANZONI, M. S. J.; SOAVE, C.
2860 F.; SENE-FIORESE, M.; DÂMASO, A. R.; CHEIK, N. C. Dieta hiperlipídica e
2861 capacidade secretória de insulina em ratos. *Rev. Nutr.* v.19(3), p.341-348, 2006.

2862 ESPOSITO, E.; CUZZOCREA, S. Antiinflammatory activity of melatonin in
2863 central nervous system. *Curr Neuropharmacol.* v. 8, p. 228–242, 2010.

2864 FLIER, J. S. Obesity wars: molecular progress confronts an expanding epidemic.
2865 *Cell*, v. 116, n. 2, p. 337-50, 2004.

2866 FLUTTERT, M.; DALM, S.; OITZL, M. S. A refined method for sequential
2867 blood sampling by tail incision in rats. *Lab. Anim.* v.34, p.372 - 378, 2000.

2868 FRANÇA, B. K.; ALVES, M. R. M.; SOUTO, F. M. S.; TIZIANE, L.;
2869 BOAVENTURA, R. F.; GUIMARÃES, A.; ALVES, A. J. Peroxidacão lipídica e
2870 obesidade: Métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos. *GE J Port*
2871 *Gastrenterol.* v. 20(5), p. 199--206, 2013.

2872 GOLDBERG, I.J.; GINSBERG, H.N. Ins and outs modulating hepatic triglyceride
2873 and development of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology.* v. 130(4),
2874 p.1343-1346, 2006.

2875 GUGLIUCCI, A.; KOTANI, K.; KIMURA, S. Paraoxonase 1 in chronic kidney
2876 failure. *J. Lipids (online)*, Cairo, v. 2012, Article ID 726048, 10 p., 2012.

2877 HAN, W. K.; WAIKAR, S. S.; JOHNSON, A.; BETENSKY, R. A.; DENT, C. L.;
2878 DEVARAJAN, P.; BONVENTRE, J. V. Urinary biomarkers in the early diagnosis of
2879 acute kidney injury. *Kidney international.* v. 73(7), p. 863-869, 2008.

2880 HANLEY, A. J.; WILLIAMS, K.; FESTA, A.; WAGENKNECHT, L. E.;
2881 D'AGOSTINO, R. B.; HAFFNER, S. M. Liver Markers and Development of the
2882 Metabolic Syndrome The Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes.* v. 54(11),
2883 p. 3140-3147, 2005.

2884 HARDELAND, R., CARDINALI, D.P., SRINIVASAN, V., SPENCE, D.W.,
2885 BROWN, G.M., PANDI-PERUMAL, S.R. Melatonin - A pleiotropic, orchestrating
2886 regulator molecule. *Prog Neurobiol.* v. 9: p.350–384, 2011.

2887 HELGE, J.W.; WATT, P.W.; RICHTER, E.A.; RENNIE, M.J.; KIENS, B. Fat
2888 utilization during exercise: adaptation to a fat-rich diet increases utilization of plasma
2889 fatty acids and very low density lipoprotein-triacylglycerol in humans. *J Physiol.* v.
2890 537(3), p.1009-1020, 2001.

2891 HEPBURN, I.S. Pregnancy-associated liver disorders. *Dig Dis Sci.* v.53, p. 2334-
2892 2358, 2008.

2893 HERRERA, E.; GOMEZ-CORONADO, D.; LASUNCION, M.A. Lipid
2894 metabolism in pregnancy. *Biol Neonate.* v. 51, p. 70-77, 1987.

2895 HIRIART, B. M.; Morffiz, Y. S.; TORRES, K. U.; MICHEL, Y. D. T.; SOSA, J.
2896 L. B. Hormona de la oscuridad. *Revista latinoamericana de patologia clínica.* v. 59, n. 4,
2897 p. 222-232 , 2012.

2898 HOPPE, J.B. Investigação do efeito neuroprotetor da melatonina em modelo in
2899 vitro de toxicidade do peptídeo β - amilóide. 2009. 91p. Dissertação (Mestrado em
2900 Bioquímica) - Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio
2901 Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

2902 HOU, J. C.; PESSIN, J. E. Ins (endocytosis) and outs (exocytosis) of GLUT4
2903 trafficking. *Current opinion in cell biology.* v.19(4), p. 466-473, 2007.

2904 HUSSAIN, S.A.R. Effect of melatonin on cholesterol absorption in rats. *J. Pineal*
2905 *Res.* v. 42, p.267-271, 2007.

2906 KIM, Y. S.; JOO, W. S.; JIN, B. K.; CHO, Y. H.; BAIK, H. H.; PARK, C. W.,
2907 Melatonin protects 6-OHDA- induced neuronal death of nigrostriatal dopaminergic
2908 system. *Neuroreport.* v. 9, n.10, p. 2387- 2390, 1998.

2909 LEE, K. S.; BUCK, M.; HOUGLUM, K.; CHOJKIER, M. Activation of hepatic
2910 stellate cells by TGF alpha and collagen type I is mediated by oxidative stress through
2911 c-myb expression. *Journal of Clinical Investigation.* v. 96(5), p. 2461, 1995.

2912 LEITE, B. F.; JAMAR, G.; CARANTI, D. A. Efeito dos ácidos graxos na
2913 Síndrome Metabólica: uma revisão de literatura. *Nutrire: Rev. Soc. Bras.* v. 39, n. 1, p.
2914 113-129, São Paulo, 2014.

2915 LERCO, M. M.; SPADELLA, C. T.; MACHADO, J. L. M.; SCHELLINI, S. A.;
2916 PADOVANI, C. R. Caracterização de um modelo experimental de Diabetes Mellitus,
2917 induzido pela aloxana em ratos. Estudo clínico e laboratorial. *Acta Cir. Bras.* v.18, n.2,
2918 132-42, 2003.

2919 LIMA, F. B.; MACHADO, U. F.; BARTOL, I.; SERAPHIM, P. M.; SUMIDA,
2920 D. H.; MORAES, S. M.; CIPOLLA-NETO, J. Pinealectomy causes glucose intolerance
2921 and decreases adipose cell responsiveness to insulin in rats. *American Journal of*
2922 *Physiology-Endocrinology And Metabolism*. v.275(6), p.E934-E941, 1998.

2923 LIMA, F. B.; MATSUSHITA, D. H.; HELL, N. S.; DOLNIKOFF, M. S.;
2924 OKAMOTO, M. M.; CIPOLLA, N. J. The regulation of insulin action in isolated
2925 adipocytes. Role of the periodicity of food intake, time of day and melatonin. *Brazilian*
2926 *journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e*
2927 *biologicas/Sociedade Brasileira de Biofisica*. v. 27(4), p. 995-1000, 1994.

2928 LIMA-LEOPOLDO, A. P.; LEOPOLDO, A. S.; SILVA, D. C. T.;
2929 NASCIMENTO, A. F. D.; CAMPOS, D. H. S. D.; LUVIZOTTO, R. D. A. M.;
2930 CICOGNA, A. C. Influência de prolongados períodos de obesidade sobre a expressão
2931 gênica miocárdica. *Arq Bras Cardiol*. v. 100(3), p. 229-237, 2013.

2932 MAZEPA, R. C.; CUEVAS, M. J.; COLLADO, P. S.; GONZALEZ-GALLEGO,
2933 J. Melatonin increases muscle and liver glycogen content in nonexercised and exercised
2934 rats. *Life sciences*. v. 66(2), p.153-160, 1999.

2935 MOLLER, D. E.; K. D. KAUFMAN. Metabolic syndrome: a clinical and
2936 molecular perspective. *Annu. Rev. Med.*, v.56, p.45-62. 2005.

2937 MORAES, MAIRA SILMARA DE. "Avaliação do estresse oxidativo no intestino
2938 de ratos submetidos à carcinogênese hepática e ação da melatonina." (2014). Trabalho
2939 de conclusão de curso de graduação apresentado ao Instituto de Ciências Básicas da
2940 Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

2941 MOURA, L. P. D.; DALIA, R. A.; ARAÚJO, M. B. D.; SPONTON, A. C. D. S.;
2942 PAULI, J. R.; MOURA, R. F. D.; MELLO, M. A. R. D. Alterações bioquímicas e
2943 hepáticas em ratos submetidos à uma dieta hiperlipídica/hiperenergética. *Revista de*
2944 *Nutrição*, p. 685-693, 2012.

2945 NAJI, L.; CARRILLO-VICO, A.; GUERRERO, J. M.; CALVO, J. R. Expression
2946 of membrane and nuclear melatonin receptors in mouse peripheral organs. **Life Sci**.
2947 v.74, n. 18, p. 2227-2236, 2004.

2948 NAKAJIMA, K.; NEMOTO, T.; MUNHEYUKI, T.; KAKEI, M.; FUCHIGAMI,
2949 H.; MUNAKATA, H. Low serum amylase in association with metabolic syndrome and
2950 diabetes: A community-based study. *methods*, v.2, p.1, 2011.

2951 NDUHIRABANDI, F.; DU TOIT, E. F.; LOCHNER, A. Melatonin and the
2952 metabolic syndrome: a tool for effective therapy in obesity-associated abnormalities?
2953 *Acta physiologica*, v. 205, n. 2, p. 209-223, 2012.

2954 NEGREA, A. Osteodistrofia renal. In: Hricik D, Sedor J, Ganz M. Segredos em
2955 Nefrologia, 3ªed., Porto Alegre, Artmed, 2002.

2956 OGETURK, M.; KUS, I.; PEKMEZ, H.; YEKELER, H.; SAHIN, S.;
2957 SARSILMAZ, M. Inhibition of carbon tetrachloride-mediated apoptosis and oxidative
2958 stress by melatonin in experimental liver fibrosis. *Toxicology and industrial health*. v.
2959 24(4), p. 201-208, 2008.

2960 ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Obesidade: prevenindo e controlando
2961 a epidemia global. [Tradução Andréa Favano] São Paulo: Roca, 2004.

2962 PADILHA, P.C.; SAUNDERS, C.; MACHADO, R. C. M.; SILVA, L.; BULL,
2963 A.; SALLY, E.O.F.; ACCIOLY, E. Associação entre o estado nutricional pré-
2964 gestacional e a predição do risco de intercorrências gestacionais. *Revista Brasileira de*
2965 *Ginecologia e Obstetrícia*. v.29, n.10, p. 511-518, 2007.

2966 PANVELOSKI-COSTA, A. C.; JÚNIOR, P.; CORREA, D. A.; BRANDÃO, B.
2967 B.; MOREIRA, R. J.; MACHADO, U. F.; SERAPHIM, P. M. Resistive training
2968 reduces inflammation in skeletal muscle and improves the peripheral insulin sensitivity
2969 in obese rats induced by hyperlipidic diet. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia &*
2970 *Metabologia*. v. 55(2), p. 155-163, 2011.

2971 PESCHKE, E.; STUMPF, I.; BAZWINSKY, I.; LITVAK, L.; DRALLE, H.;
2972 MÜHLBAUER, E. Melatonin and type 2 diabetes—a possible link?*. *Journal of pineal*
2973 *research*. v. 42(4), 2007.

2974 PICINATO, M. C.; HABER, E. P.; CARPINELLI, A. R.; CIPOLLA-NETO, J.
2975 Daily rhythm of glucose-induced insulin secretion by isolated islets from intact and
2976 pinealectomized rat. *Journal of pineal research*. v.33(3), p.172-177, 2002.

2977 PICINATO, M. C.; HABER, E. P.; CIPOLLA-NETO, J.; CURI, R.; DE
2978 OLIVEIRA CARVALHO, C. R.; CARPINELLI, A. R. Melatonin inhibits insulin
2979 secretion and decreases PKA levels without interfering with glucose metabolism in rat
2980 pancreatic islets. *Journal of pineal research*. v. 33(3), p.156-160, 2002.

2981 PINKE, C. A. E. (2013). Efeito da dieta hiperlipídica na programação fetal do
2982 metabolismo energético e atividade de enzimas digestivas em ratos.

2983 RASMUSSEN, D. D.; MITTON, D. R.; LARSEN, S. A.; YELLON, S. M.
2984 Aging-dependent changes in the effect of daily melatonin supplementation on rat
2985 metabolic and behavioral responses. *Journal of pineal research*. v. 31(1), p. 89-94, 2001.

2986 ROSA, D. P. D.; BONA, S.; SIMONETTO, D.; ZETTLER, C.; MARRONI, C.
2987 A.; MARRONI, N. P. Melatonin protects the liver and erythrocytes against oxidative
2988 stress in cirrhotic rats. *Arquivos de gastroenterologia*. v. 47(1), p.72-78, 2010.

2989 RUSSCHER, M.; KOCH, B.; NAGTEGAAL, E.; VAN DER PUTTEN, K.; TER
2990 WEE, P.; GAILLARD, C. The role of melatonin treatment in chronic kidney disease.
2991 *Front Biosci*. v. 17, p. 2644-2656, 2012.

2992 SCHINONI, M.I. Fisiologia hepática. *Gaz. méd. Bahia*, v. 76, n.1, p. S5-S9, 2006.

2993 SENER, G.; BALKAN, J.; CEVIKBAŞ, U.; KEYER-UYSAL, M.; UYSAL, M.
2994 Melatonin reduces cholesterol accumulation and prooxidant state induced by high
2995 cholesterol diet in the plasma, the liver and probably in the aorta of C57BL/6J mice. *J*
2996 *Pineal Res*. v. 36(3), p.212-216, 2004.

2997 SHAMIR, R.; KASSIS, H.; KAPLAN, M., NAVEH, T.; SHEHADEH, N.
2998 Glycemic control in adolescents with type 1 diabetes mellitus improves lipid serum
2999 levels and oxidative stress. *Pediatric diabetes*. v. 9(2), p. 104-109, 2008.

3000 SILVA, ESTEFANE EVELIN GASPARI. (2014). "Avaliação do
3001 comprometimento hepático à exposição a micropartículas poluentes: Análise da
3002 expressão de citocinas." Monografia de Conclusão do Componente Curricular MED-
3003 B60/2013.2, como pré-requisito obrigatório e parcial para conclusão do curso médico
3004 da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia.

3005 SVEGLIATI, B. G.; D'AMBROSIO, L.; FERRETTI, G.; CASINI, A.; DI
3006 SARIO, A.; SALZANO, R.; BENEDETTI, A. Fibrogenic effect of oxidative stress on
3007 rat hepatic stellate cells. *Hepatology*. v.27(3), p.720-726, 1998.

3008 SWINBURN, B.A.; SACKS, G.; HALL, K.D.; MCPHERSON, K.;
3009 FINEGOOD, D.T.; MOODIE, M.L.; GORTMAKER, S. L. The global obesity
3010 pandemic: shaped by global drivers and local environments. *Lancet*. v. 378, n. 9793, p.
3011 804-814, 2011.

3012 SZCZEPANIAK, L.S.; NURENBERG, P.; LEONARD, D.; BROWNING, J. D.;
3013 REINGOLD, J. S.; GRUNDY, S.; HOBBS, H. H.; DOBBINSET, R. L. Magnetic
3014 resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic

3015 steatosis in the general population. *Am J Physiol Endocrinol Metab* v.288, p. E462-468,
3016 2005.

3017 TAHAN, V.; OZARAS, R.; CANBAKAN, B.; UZUN, H.; AYDIN, S.;
3018 YILDIRIM, B.; SENTURK, H. Melatonin reduces dimethylnitrosamine-induced liver
3019 fibrosis in rats. *Journal of pineal research*. v. 37(2), p.78-84, 2004.

3020 TONUCCI, J.; TOLEDO, M. T. Obesidade Induzida por Glutamato Monossódico
3021 em ratas Wistar prenhes Adultas. *Revista Eletrônica de Biologia (REB)*. ISSN 1983-
3022 7682. v.4(2), p.10-24, 2012.

3023 UTZSCHNEIDER, K.M.; KAHN, S.E. Review: the role of insulin resistance in
3024 nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Endocrinol Metab*. v.91, p.4753-4761, 2006.

3025 WEERASEKERA, D.S.; PEIRIS, H. The value of serum fructosamine in
3026 comparison with oral glucose tolerance test (OGTT) as a screening test for detection of
3027 gestational diabetes mellitus. *J Obstet Gynaecol*. v. 20(2), p. 136-138, 2000.

3028 WIDMAIER, E. P.; RAFF, H.; STRANG, K. T. Vander, Sherman & Luciano
3029 fisiologia humana: os mecanismos das funções corporais. Guanabara Koogan, 2006.

3030 XAVIER, H. T.; IZAR, M. C.; FARIA NETO, J. R.; ASSAD, M. H.; ROCHA, V.
3031 Z.; SPOSITO, A. C.; RAMIRES, J. A. F. V Diretriz brasileira de dislipidemias e
3032 prevenção da aterosclerose. *Arquivos brasileiros de cardiologia*. v. 101(4), p.1-20, 2013.

3033

3034

3035

3036

3037

3038

3039

3040

3041

3042

3043

3044

3045

3046

3047

3048
 3049
 3050
 3051
 3052
 3053
 3054
 3055
 3056
 3057
 3058
 3059
 3060
 3061
 3062
 3063
 3064
 3065
 3066
 3067
 3068
 3069
 3070
 3071
 3072
 3073

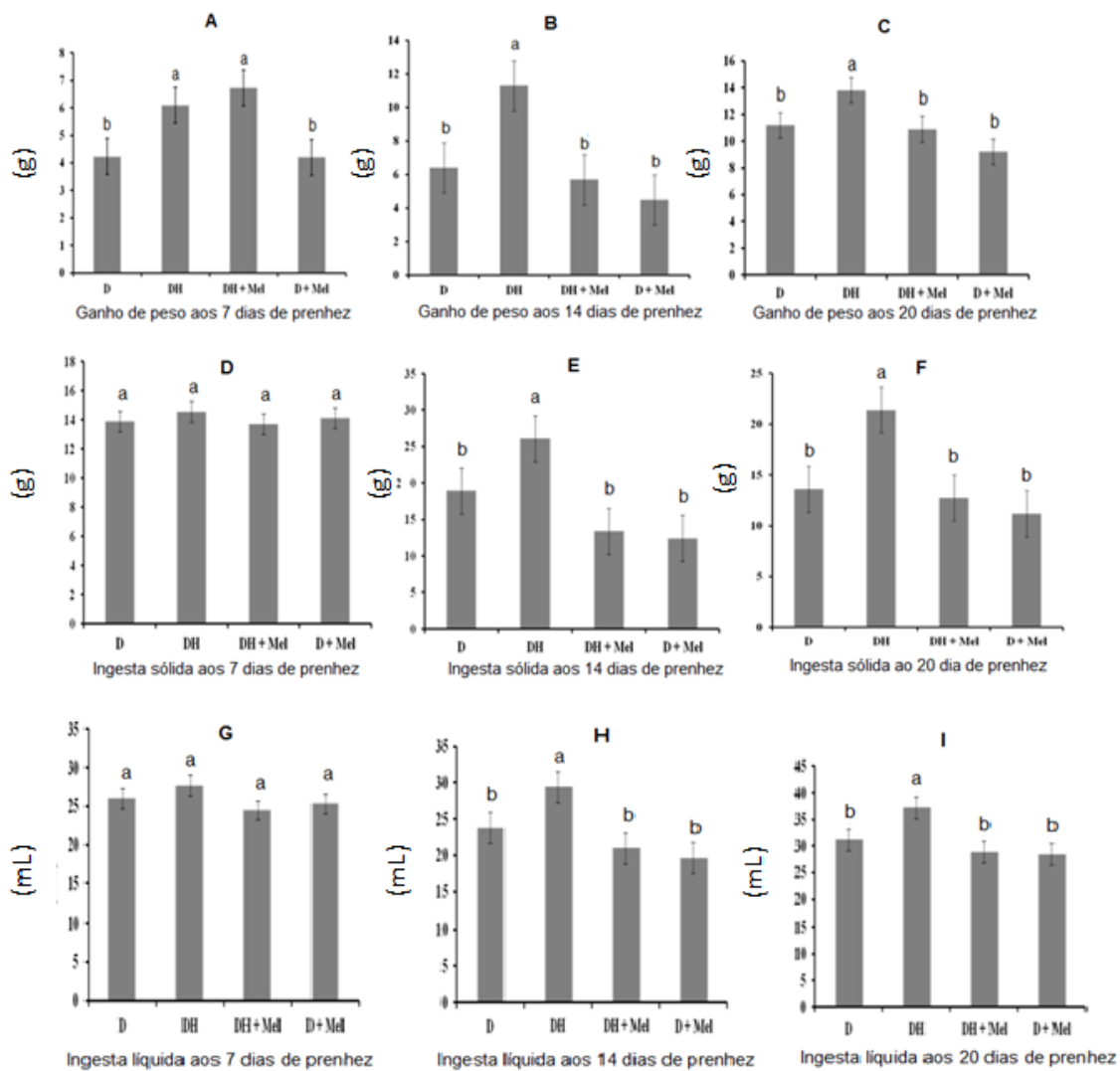


Figura 1: Ganho de peso A (7dias), B(14 dias) e C (21 dias); Ingesta Sólida D (7dias), E (14 dias) e F (21 dias) e Ingesta Líquida G (7dias) H (14 dias) e I (21 dias). Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ($P < 0,05$).

3074

Tabela 3. Bioquímica das matrizes ao 7° dia de prenhez

Grupos	Dieta Padrão	Dieta Hipercalórica	Dieta Hipercalórica + Melatonina	Dieta Padrão + Melatonina	P
ALT (UI/L)	86,52 ± 8,41a	103,2 ± 9,52b	82,31 ± 7,07a	76,64 ± 3,57a	0,0048
AST (UI/L)	1,05 ± 0,96a	10,84 ± 2,33b	1,98 ± 1,40a	0,70 ± 0,20a	0,0077
GAMA GT (UI/L)	1,55 ± 0,60a	4,60 ± 1,52b	1,74 ± 0,25a	1,43 ± 0,45a	0,0199
FA (UI/L)	131,00 ± 13,27a	93,60 ± 14,07b	135,50 ± 20,26a	131,40 ± 16,10a	0,0156
Amilase (UI/dL)	83,40 ± 4,14a	75,80 ± 3,61a	75,00 ± 4,96a	73,20 ± 5,87a	0,2536
Glicose (mg/dL)	102,70 ± 6,38a	122,70 ± 7,32b	98,60 ± 3,21a	97,50 ± 5,77a	0,0055
Lipase (UI/L)	12,60 ± 2,51a	17,20 ± 2,58b	9,20 ± 3,83a	8,80 ± 4,67a	0,0112
Colesterol (mg/dL)	63,31 ± 3,58a	81,51 ± 8,94b	57,90 ± 2,80a	56,57 ± 8,40a	0,0047
Trigl. (mg/dL)	64,22 ± 2,95a	86,23 ± 8,41b	57,90 ± 6,27a	61,48 ± 4,84a	0,0105
HDL (mg/dL)	41,80 ± 4,55a	37,20 ± 1,30b	49,20 ± 4,28a	46,60 ± 3,20a	0,0216
LDL (mg/dL)	35,97 ± 1,10a	55,31 ± 2,66b	35,70 ± 1,13a	34,47 ± 1,65a	0,0168
Frutosamina (µmol/L)	107,60 ± 4,93a	139,80 ± 5,45b	106,20 ± 1,48a	104,20 ± 1,92a	0,0327

3075 Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste de Wilcoxon-
 3076 Mann-Whitney test (P<0,05).
 3077

3078 **Tabela 4.** Bioquímica das matrizes ao 14° dia de prenhez

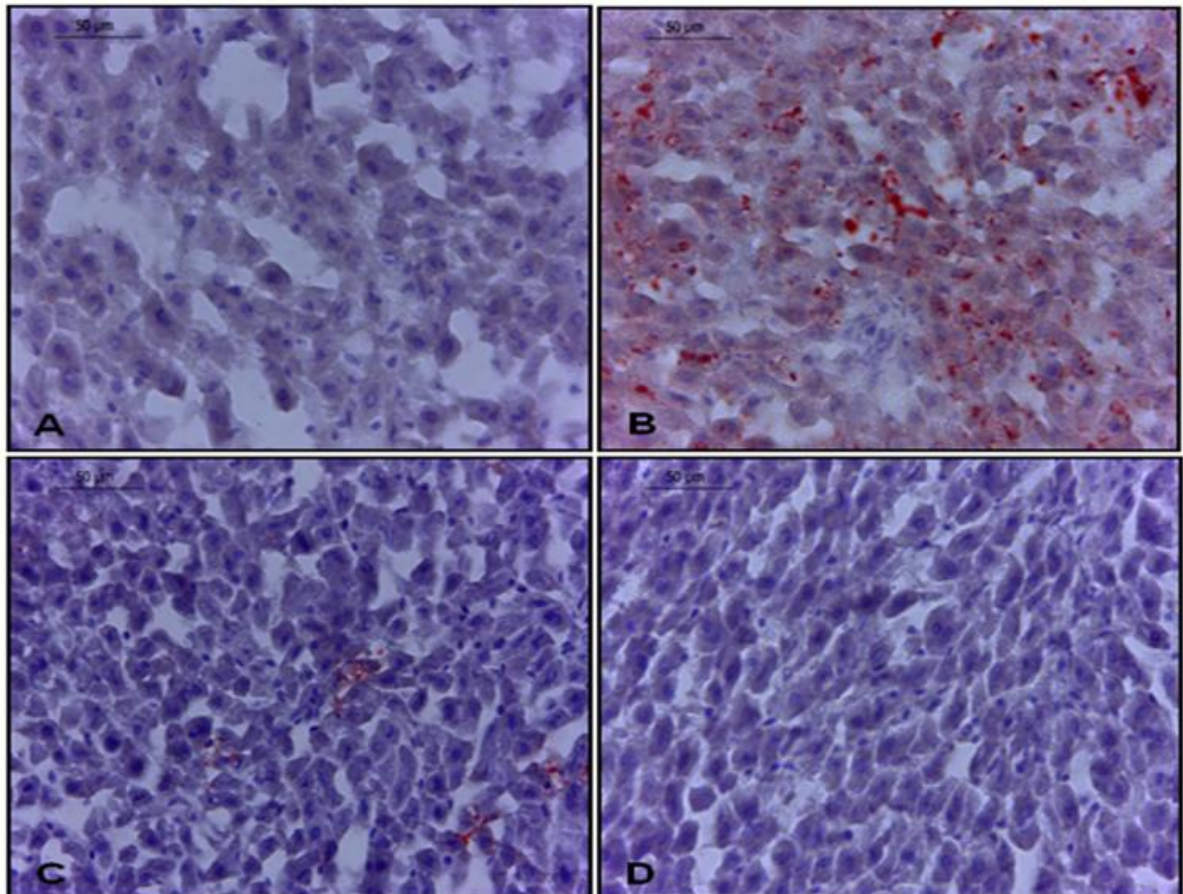
Grupos	Dieta Padrão	Dieta Hipercalórica	Dieta Hipercalórica + Melatonina	Dieta Padrão + Melatonina	P
ALT (UI/L)	80,10 ± 3,58a	96,16 ± 4,03b	84,36 ± 4,07a	83,81 ± 6,36a	0,0311
AST (UI/L)	2,22 ± 1,78a	13,05 ± 2,47b	2,11 ± 1,58a	2,17 ± 1,97a	0,0127
GAMA GT (UI/L)	1,57 ± 0,67a	3,37 ± 1,43b	0,92 ± 0,70a	1,16 ± 0,58a	0,0199
FA (UI/L)	277,30 ± 11,77a	181,00 ± 9,22b	270,49 ± 11,65a	267,00 ± 8,26a	0,0083
Amilase (UI/dL)	82,17 ± 3,24a	106,20 ± 5,17b	72,60 ± 2,21c	70,60 ± 4,90c	0,0142
Glicose (mg/dL)	101,30 ± 5,51a	121,3 ± 9,09b	92,05 ± 4,65a	90,14 ± 7,85a	0,0009
Lipase (UI/L)	11,40 ± 3,67a	16,40 ± 1,94b	8,80 ± 1,04a	7,96 ± 1,50a	0,0181
Colesterol (mg/dL)	63,69 ± 4,73a	91,21 ± 7,07b	52,98 ± 7,96a	54,62 ± 7,47a	0,0060
Trigl. (mg/dL)	61,55 ± 6,90a	107,00 ± 7,48b	50,53 ± 5,26a	55,80 ± 3,73a	0,0066
HDL (mg/dL)	43,00 ± 4,23a	20,40 ± 6,22b	50,60 ± 5,14a	52,60 ± 6,51a	0,0010
LDL (mg/dL)	32,45 ± 0,94a	63,52 ± 0,71b	33,69 ± 1,76a	34,73 ± 1,42a	0,0219
Frutosamina (µmol/L)	112,40 ± 3,05a	147,00 ± 6,04b	109,80 ± 3,70a	108,20 ± 5,45a	0,0078

3079 Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste de Wilcoxon-
 3080 Mann-Whitney test (P<0,05).
 3081

3082 **Tabela 5.** Bioquímica das matrizes ao 20° dia de prenhez

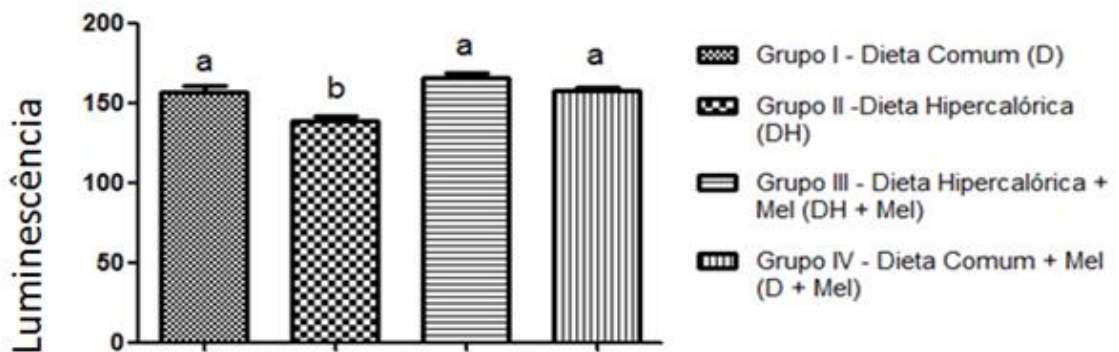
Grupos	Dieta Padrão	Dieta Hipercalórica	Dieta Hipercalórica + Melatonina	Dieta Padrão + Melatonina	P
ALT (UI/L)	76,57 ± 2,51a	102,40 ± 3,68b	70,23 ± 1,52c	67,27 ± 4,47c	0,0042
AST (UI/L)	2,10 ± 0,61a	14,98 ± 3,45b	1,38 ± 0,11c	1,29 ± 0,29c	0,0171
GAMA GT (UI/L)	2,68 ± 0,92a	3,74 ± 0,09b	1,81 ± 0,07c	1,72 ± 0,07c	0,0105
FA (UI/L)	270,30 ± 5,89a	107,40 ± 4,79b	288,0 ± 5,80c	286,70 ± 3,09c	0,0120
Amilase (UI/dL)	84,40 ± 3,05a	105,20 ± 3,96b	73,60 ± 3,36c	74,00 ± 2,34c	0,0011
Glicose (mg/dL)	96,39 ± 3,46a	125,40 ± 5,41b	69,04 ± 6,05c	62,66 ± 4,80c	0,0209
Lipase (UI/L)	8,80 ± 1,48a	11,00 ± 3,16b	6,00 ± 0,70c	5,60 ± 1,14c	0,0022
Colesterol (mg/dL)	59,16 ± 3,17a	102,20 ± 5,61b	48,79 ± 5,10c	47,66 ± 2,67c	0,0113
Trigl. (mg/dL)	57,42 ± 3,72a	101,80 ± 4,43b	45,93 ± 3,06c	43,80 ± 2,20c	0,0008
HDL (mg/dL)	53,40 ± 3,28a	26,20 ± 5,49b	71,40 ± 2,30c	73,80 ± 4,14c	0,0110
LDL (mg/dL)	22,45 ± 0,23a	71,15 ± 5,02b	17,69 ± 2,33c	16,73 ± 1,40c	0,0068
Frutosamina (µmol/L)	102,80 ± 2,58a	136,00 ± 5,38b	95,00 ± 2,40c	94,80 ± 2,22c	0,0310

3083 Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste de Wilcoxon-
 3084 Mann-Whitney test (P<0,05).
 3085
 3086
 3087
 3088
 3089
 3090
 3091
 3092
 3093
 3094
 3095
 3096
 3097
 3098
 3099
 3100
 3101



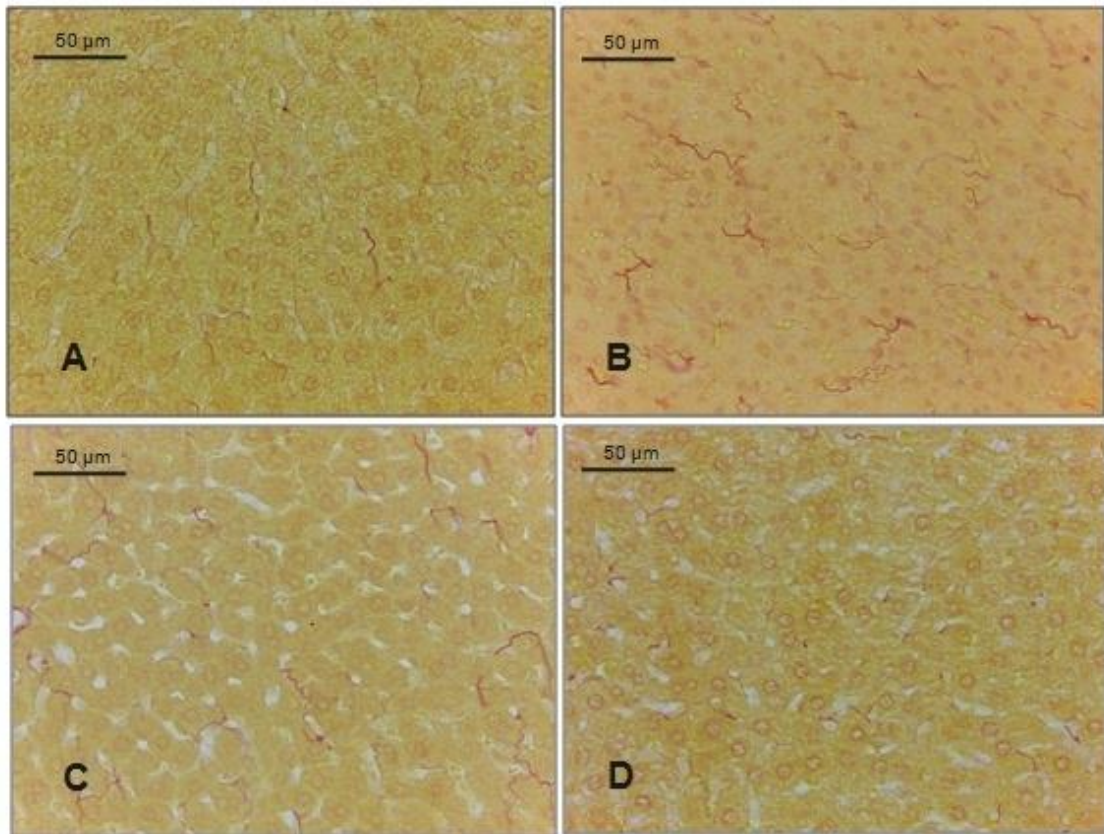
3102
 3103 **Figura 2:** Fotomicrografia de fígado corados pelo OIL RED O. A: Dieta Comum, B: Dieta
 3104 Hipercalórica, C: Dieta Comum + Melatonina e D: Dieta Comum + Melatonina.

3105
 3106
 3107
 3108
 3109
 3110
 3111
 3112
 3113



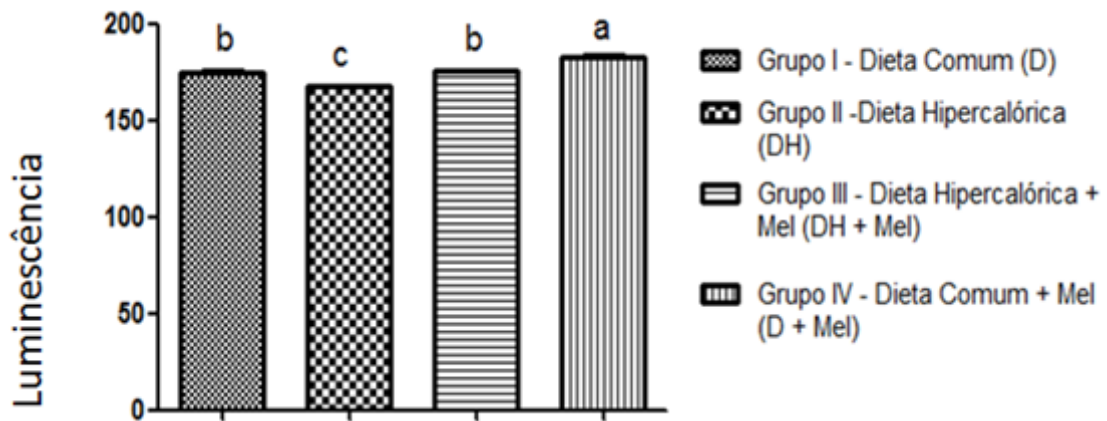
3114 **Figura 3:** Quantificação de lipídios hepáticos por coloração OIL RED O. Médias seguidas pela
 3115 mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de ANOVA seguido pelo pos hoc
 3116 de Tukey ($P < 0,05$).

3117
3118
3119
3120
3121
3122
3123
3124
3125
3126
3127
3128
3129
3130
3131
3132



3133 **Figura 4:** Fotomicrografia de fígado mostrando fibras colágenas coradas pelo Sirius Red. A:
3134 Dieta Comum, B: Dieta Hipercalórica, C: Dieta Comum + Melatonina e D: Dieta Comum +
3135 Melatonina;

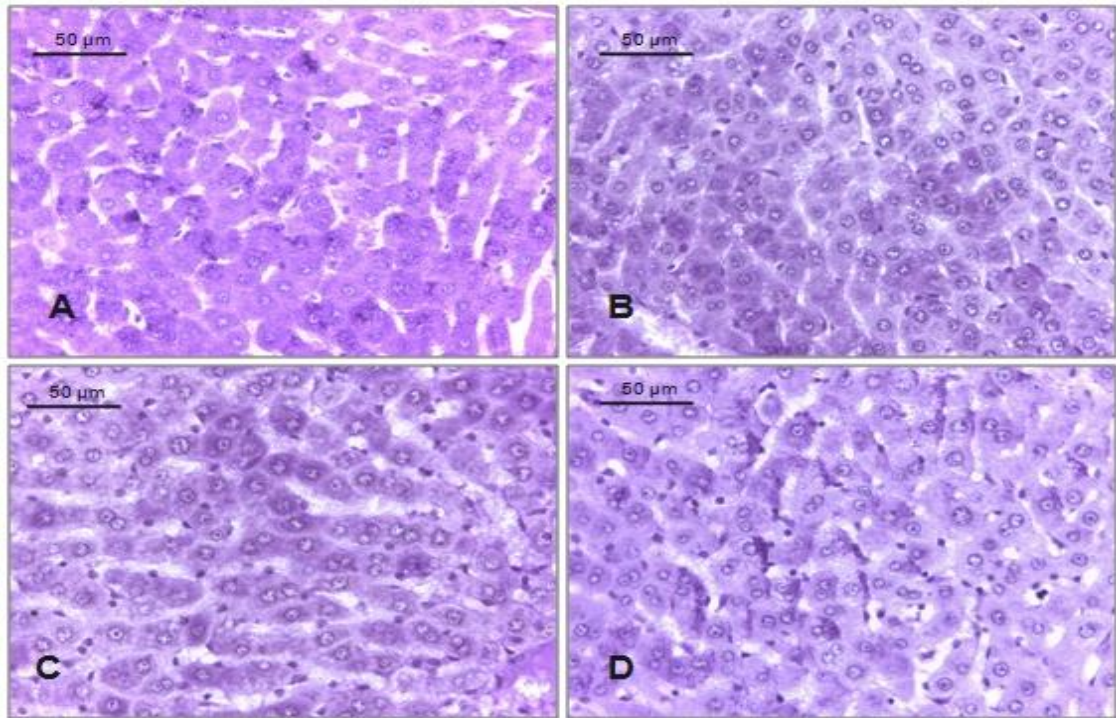
3136
3137
3138
3139
3140
3141
3142
3143
3144



3145 **Figura 5:** Quantificação de fibras colágenas hepáticas. Coloração Sirius Red. Médias seguidas
3146 pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de ANOVA seguido pelo
3147 pos hoc de Tukey ($P < 0,05$).

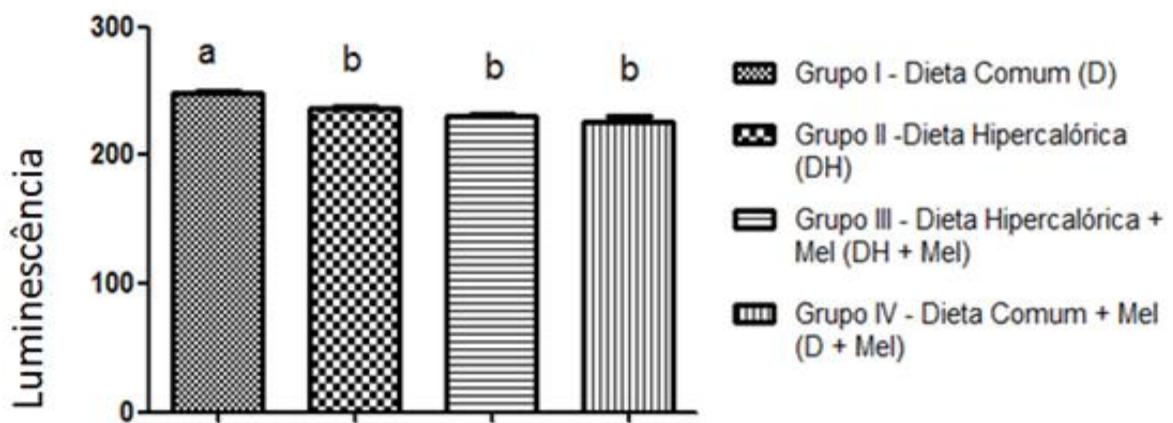
3148
3149
3150

3151
3152
3153
3154
3155
3156
3157
3158
3159
3160
3161
3162
3163
3164



3165 **Figura 6:** Fotomicrografia de fígado evidenciando glicogênio hepático corado pelo
3166 Ácido Periódico de Schiff. A: Dieta Comum, B: Dieta Hipercalórica, C: Dieta Comum
3167 + Melatonina e D: Dieta Comum + Melatonina.

3168
3169
3170
3171
3172
3173
3174
3175
3176
3177



3178 **Figura 7:** Quantificação de glicogênio hepático. Coloração Ácido Periódico de Schiff. Médias
3179 seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de ANOVA
3180 seguido pelo pos hoc de Tukey ($P < 0,05$).

3181
3182
3183
3184

3185 CAPÍTULO III

3186
3187 Administração da melatonina exógena associada a uma dieta hipercalórica em
3188 ratas prenhes pode prevenir danos na histofisiologia renal e do baço

3189
3190
3191 Solange Bezerra da Silva¹, Clovis Lapa Neto¹, Anísio Francisco Soares¹, Scheilla
3192 Araújo Xavier de Mello², Christina Alves Peixoto³, Wilma Helena de Oliveira³, Leucio
3193 Duarte Vieira Filho⁴, Valéria Wanderley Teixeira^{1*}, Álvaro Aguiar Coelho Teixeira¹,

3194
3195 ¹ Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Morfologia e
3196 Fisiologia Animal, Recife, Brasil

3197 ² Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina
3198 Veterinária - Laboratório de Patologia Clínica, Recife, Brasil

3199 ³ Universidade Federal de Pernambuco, Laboratório de Ultraestrutura –
3200 CPqAM/FIOCRUZ, Recife, Brasil

3201 ⁴ Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Fisiologia e
3202 Farmacologia - Laboratório de Fisiopatologia Renal/CCB Recife, Brasil

3203
3204 *Autor para correspondência: UFRPE-DMFA. Av. Dom Manoel de Medeiros
3205 s/n Dois Irmãos-Recife-PE-Brazil. CEP 52171-900. Tel. +55 81 33206389
3206 E-mail: valeria.wanderley@ufrpe.br (WANDERLEY-TEIXEIRA, V)

3210 **RESUMO**

3211 Obesidade é o acúmulo excessivo de gordura no tecido adiposo. Associadamente
3212 surgem comorbidades afetando os rins, baço e sistema imunológico, que podem estar
3213 relacionadas ao estresse oxidativo. Atualmente tem-se buscado estratégias terapêuticas
3214 através do uso de antioxidantes como a melatonina. Objetivou-se analisar a interação
3215 desse hormônio com a histofisiologia renal e o sistema imune bem como sua correlação
3216 com a obesidade durante o período gestacional. Foram utilizadas 40 ratas da linhagem
3217 Wistar, divididas em 4 grupos (n=10): Grupo I-ratas submetidas à dieta comum durante
3218 a gestação; Grupo II-ratas submetidas à dieta hipercalórica durante a gestação; Grupo
3219 III-ratas submetidas à dieta hipercalórica associada a melatonina (0,5mg/kg) durante a
3220 gestação e Grupo IV-ratas submetidas à dieta comum associada a melatonina
3221 (0,5mg/kg) durante a gestação. Foram realizadas análises hematológicas, bioquímicas,
3222 de estresse oxidativo e urinálise aos 7, 14 e 20 dias de prenhez, além de análises
3223 histoquímicas e imunohistoquímicas do rim e do baço. Observou-se que os animais do
3224 grupo II apresentaram alterações hematológicas, urinárias e bioquímicas significativas,
3225 como aumento nos níveis de uréia, creatinina, glicose, bilirrubina, leucócitos, e
3226 plaquetas, sendo tais parâmetros normalizados pela administração da melatonina. Além
3227 disso, a marcação de colágeno e citocinas proinflamatórias no baço (IL-6 e TNF- α) foi
3228 elevada e a de VEGF reduzida. A melatonina exógena mostrou ser uma alternativa
3229 terapêutica eficaz para as comorbidades oriundas da obesidade. Faz-se necessário,
3230 entretanto, mais estudos para elucidar os mecanismos de atuação dessa indolamina e seu
3231 potencial de ação.

3232

3233 **Palavras-chave:** sistema imunológico, rim, dieta hipercalórica, melatonina, prenhez

3234

3235

3236

3237

3238

3239

3240

3241 **ABSTRACT**

3242 Obesity is the excessive accumulation of fat in adipose tissue. Occur in association with
3243 comorbidities in the kidneys, spleen, immune system, which may be related to oxidative
3244 stress. Currently it has been sought therapeutic approaches through the use of
3245 antioxidants such as melatonin. The objective was to analyze the interaction of the
3246 hormone with renal histophysiology and the immune system as well as its correlation
3247 with obesity during pregnancy. They were used 40 female Wistar rats were divided into
3248 4 groups: Group I-rats submitted to common diet during pregnancy; Group II-rats
3249 submitted to high calorie diet during pregnancy; Group III rats submitted to high calorie
3250 diet associated with melatonin (0.5 mg / kg) during pregnancy and Group IV-rats
3251 submitted to common diet associated with melatonin (0.5 mg / kg) during
3252 pregnancy. Hematologic analyzes, biochemical, oxidative stress and urinalysis were
3253 performed at 7, 14 and 20 days of pregnancy, as well as histochemical and
3254 immunohistochemical analysis of kidney and spleen. It was observed that the animals of
3255 group II showed significant hematological, urinary and biochemical alterations, such as
3256 increased levels of urea, creatinine, glucose, bilirubin, leukocytes, and platelets, and
3257 these parameters were standard by the administration of melatonin. Furthermore, the
3258 marking of collagen and proinflammatory cytokines in spleen (IL-6 and TNF- α) was
3259 elevated and reduced VEGF. Exogenous melatonin has shown to be an effective
3260 therapeutic alternative for comorbidities arising from obesity. It is necessary, however,
3261 further studies to elucidate the mechanisms of action of this indoleamine and potential
3262 action.

3263

3264 Keywords: immune system, kidney, high calorie diet, melatonin, pregnancy.

3265

3266 **1. INTRODUÇÃO**

3267 A obesidade, antes considerada como símbolo de fartura, saúde e beleza, é nos
3268 dias atuais uma doença crônica multifatorial caracterizada pelo excesso de gordura
3269 corporal decorrente da hiperplasia e/ou hipertrofia dos adipócitos (REPETTO;
3270 RIZZOLLI; BONATTO, 2003). Segundo Rosini; Silva; Moraes (2012) os fatores
3271 ambientais, entre eles o consumo de dietas inadequadas e a inatividade física, são os que
3272 mais contribuem para sua gênese em humanos. Ressalta-se que na gestação o excesso de
3273 peso e obesidade podem acarretar vários riscos maternos e fetais. Dentre os riscos
3274 maternos destacam-se a ocorrência do diabetes mellitus gestacional, síndromes
3275 hipertensivas (hipertensão crônica e pré-eclâmpsia), infecção urinária, parto induzido e
3276 cesarianas, hemorragia pós-parto, infecção puerperal e doença tromboembólica
3277 (ATHUKORALA et al., 2010; FONSECA; TRALDI, 2014).

3278 Em pessoas obesas a doença renal é uma comorbidade associada à alta taxa de
3279 mortalidade e complicações cardiovasculares (HSU et al., 2006). Estudos indicam que
3280 fatores relacionados à doença como, por exemplo, excesso de triglicerídeos e glicose
3281 podem potencialmente prejudicar a função renal, pois promovem a proliferação de
3282 células mesangiais e citocinas proinflamatórias (WAHBA; MAK, 2007), bem como a
3283 inflamação decorrente ao aumento da massa adiposa (GUARNIERI et al., 2010). De
3284 acordo com Guimarães-Souza et al. (2015) estudos realizados em animais e em seres
3285 humanos obesos, que apresentavam lesões renais, demonstraram alterações na
3286 hemodinâmica do órgão e no comprometimento da sua função, avaliada pelo aumento
3287 da taxa de filtração glomerular, observada em 25,5% dos indivíduos com aumento do
3288 índice de massa corpórea.

3289 Segundo Júnior et al. (2015), a participação de mecanismos inflamatórios tem
3290 sido cada vez mais apresentada nos processos fisiopatológicos da progressão da doença

3291 renal, incluindo fibrose glomerular e/ou túbulo intersticial progressiva, lesão capilar
3292 peritubular por hipóxia e perda da funcionalidade dos néfrons.

3293 Além de tais características, a obesidade também atua nos órgãos do sistema
3294 imune, como o baço, resultando na sua incapacidade em sintetizar citocinas que seriam
3295 provavelmente produzidas por outros tecidos uma vez que sua expressão neste órgão
3296 encontra-se reduzida (GOTOH et al., 2012).

3297 Essas alterações na resposta imune agem conjuntamente em muitos tecidos com o
3298 estresse oxidativo o qual induz a produção de citocinas inflamatórias promovendo a
3299 produção de radicais livres (GUIMARÃES-SOUZA et al., 2015), apresentando-se,
3300 portanto, como um sério problema relacionado a obesidade e suas comorbidades.

3301 Devido a esse fato tem-se buscado estratégias terapêuticas através do uso de
3302 antioxidantes, cujo objetivo é atenuar a superprodução das espécies reativas de oxigênio
3303 (ROS) e de nitrogênio (RNS) (FORD; AJANI; MOKDAD, 2005). A melatonina, uma
3304 indolamina produzida durante a fase de escuro pela glândula pineal, é considerada um
3305 dos mais poderosos agentes antioxidantes naturais (TAN et al., 2002) e apresenta
3306 relações diretas com o tecido adiposo, sendo mediadora fundamental para a otimização
3307 do balanço de energia e regulação do peso corporal (CIPOLLA-NETO et al., 2014).

3308 Diversas células e órgãos apresentam receptores para a melatonina, como os MT1
3309 (Mel 1a), encontrados nos rins, fígado, retina, ovários, e também em células do sistema
3310 imune, como células B, T CD4+, e T CD8+, além do timo e baço (CARILLO-VICO et
3311 al., 2005), sendo este um importante reservatório de células inflamatórias. Em trabalho
3312 realizado por Shatskikh; Luzikova (2012) os autores verificaram a característica
3313 imunomoduladora da melatonina, onde sua administração a longo prazo sob condições
3314 de ausência de luz possuiu um efeito imunoestimulante, evidenciado pelo aumento no
3315 fluxo de células imunocompetentes para o baço e sua emigração do sangue periférico,

3316 concomitante com o aumento do número de nódulos linfoides. Animais alimentados
3317 com dieta hipercalórica tiveram os teores relativos de células B no baço aumentados,
3318 porém reduziram o conteúdo de células T, células apresentadoras de antígenos e
3319 linfócitos ativados neste órgão. A melatonina normalizou esses parâmetros, que foram
3320 acompanhados por um aumento das células T auxiliares quando comparados com o
3321 controle (TRUFAKIN et al., 2014). De acordo com esse estudo a melatonina restaurou
3322 alguns parâmetros da composição celular de órgãos imunes. Assim, a melatonina sendo
3323 um potente antioxidante, hipolipidêmico, imunomodulador é um agente promissor para
3324 o tratamento de distúrbios lipídicos e estado imune prejudicado na alimentação rica em
3325 gordura. Além disso a melatonina também exerce efeito no rim, onde sua administração
3326 foi capaz de reverter lesões oriundas do estresse oxidativo e fibrose, no parenquima e
3327 estroma do órgão (SUTKEN et al., 2007). Assim, a presente pesquisa avaliou se a
3328 melatonina exógena associada ou não a uma dieta hipercalórica em ratas prenhes pode
3329 prevenir danos na histofisiologia renal e do baço, atenuando ou prevenindo efeito de
3330 fibroses, alterações bioquímicas e no hemograma, urilálise, citocinas pro-inflamatórias e
3331 estresse oxidativo plasmático e renal.

3332

3333 **2. Material e Métodos**

3334 Foram utilizadas 40 ratas albinas (*Rattus norvegicus albinus*) com 90 dias de
3335 idade, virgens, pesando $200\text{g} \pm 20\text{g}$, da linhagem Wistar, procedentes do Biotério do
3336 Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, da Universidade Federal Rural de
3337 Pernambuco. O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética
3338 Institucional (CEUA) licença de número: 012/2014. Após a realização de exames
3339 colpocitológicos, as fêmeas que apresentaram três ciclos estrais regulares foram
3340 acasaladas na proporção de um macho para três fêmeas sempre às 18:00 horas. Às 7:00

3341 horas do dia seguinte, após a confirmação do acasalamento, metade das fêmeas (n=20
3342 animais) foi alimentada com ração comercial comum padrão adquirida da empresa
3343 PragSoluções Comercio e Servicos Ltda Me (Pragsolutions) e água *ad libitum* e a outra
3344 metade (n=20) recebeu dieta comercial hipercalórica adquirida da mesma empresa e
3345 água *ad libitum*. Formaram-se assim 4 grupos de matrizes (n=10): Grupo I: ratas
3346 prenhes submetidas à dieta comum durante a gestação (D); Grupo II: ratas prenhes
3347 submetidas à dieta hipercalórica durante a gestação (DH); Grupo III: ratas prenhes
3348 submetidas à dieta hipercalórica associada a administração de melatonina durante a
3349 gestação (DH+mel) e Grupo IV: ratas prenhes submetidas à dieta comum associada a
3350 administração de melatonina durante a gestação (D+mel). Após o final da gestação as
3351 fêmeas foram anestesiadas com quetamina (80mg/kg) e xilasina (20mg/kg) para retirada
3352 dos rins e baço. Para eutanásia foi utilizado o aprofundamento da anestesia até a dose
3353 letal, de acordo com a resolução do CFMV 714/2002.

3354

3355 **2.1. Composição Nutricional das Rações**

3356 As dietas adquiridas possuem a composição estabelecida nas tabelas abaixo:

3357 Tabela 1 - Dieta HF Integral 60% 5205 cal/Kg - Peletes mais macios

	Composição (%)	Composição (cal/Kg)
Matéria mineral	5,00	0
Proteína bruta	26,00	1040
Extrato etéreo (gordura)	34,50	3105
Fibra bruta	8,00	0
Carboidratos	26,50	1060
	100,00	5205

3358

3359

3360

3361

3362

Tabela 2 - Dieta Controle Integral

	Composição (%)	Composição (cal/Kg)
Matéria mineral	6,00	0
Proteína bruta	22,00	880
Extrato etéreo (gordura)	4,00	360
Fibra bruta	7,00	0
Carboidratos	61,00	2440
	100,00	3680

3363

3364 2.2. Administração da Melatonina

3365 A administração da melatonina foi realizada nas ratas dos grupos III e IV de
3366 acordo com o protocolo estabelecido por KIM et al. (1998). A dose de melatonina
3367 (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo., USA) administrada foi de 0,5 mg/Kg, dissolvida
3368 diariamente em 100 microlitros de álcool, diluída em 300 microlitros de solução NaCl
3369 0,9% e aplicada às 18:00 horas.

3370

3371 2.3. Histoquímica do rim e baço

3372 Após o final da gestação, os órgãos foram dissecados e fixados em solução
3373 contendo formalina a 10% tamponada por 24 horas. Posteriormente, as amostras foram
3374 submetidas à desidratação em soluções de concentração crescente de etanol, dois banhos
3375 de tolueno e incluídos em parafina. Foram então realizados cortes histológicos com o
3376 auxílio de um micrótomo (LEICA RM 2125RT) para confecção das lâminas
3377 histológicas. As lâminas foram pré-tratadas com xileno para remoção de parafina e
3378 hidratadas com série decrescente de etanol. Em seguida, os cortes foram corados em 1%
3379 de solução Sirius Red em ácido pícrico saturado durante 2 horas. Após esse processo, as
3380 lâminas foram desidratadas em concentrações crescentes de etanol, clareadas em xileno,
3381 e montadas em bálsamo do Canadá sintético. As avaliações foram realizadas com o

3382 auxílio de um Microscópio Leica DM 500 acoplado com câmera Leica ICC50 HD e
3383 software LAS EZ 4.3. Cinco imagens, com a mesma ampliação, foram analisadas para a
3384 quantificação do colágeno por meio do software Gimp 2.6 (GNU ImageManipulation
3385 Programa, as plataformas UNIX).

3386

3387 **2.4. Imunohistoquímica do Rim e Baço (IL-6, TNF- α , VEGF)**

3388 Após o término da gestação, para análise imunohistoquímica, as lâminas foram
3389 desparafinizadas e reidratadas em xilol e alcoóis. A recuperação antigênica foi realizada
3390 através de uma solução de tampão citrato (pH 8.0) em alta temperatura no microondas
3391 por 5 minutos. A peroxidase endógena foi inibida através de uma solução de peróxido
3392 de hidrogênio (3%) em metanol. A reação antígeno-anticorpo inespecífica foi bloqueada
3393 através da incubação das lâminas em PBS e albumina sérica bovina (BSA) 5% durante
3394 uma hora. Todos os anticorpos (Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, CA, EUA)
3395 foram diluídos em PBS/BSA 1% por uma hora. Subsequentemente, as lâminas foram
3396 tratadas com o anticorpo secundário por trinta minutos. A reação antígeno-anticorpo foi
3397 observada através de um precipitado marrom após aplicação de 3,3 diaminobenzidina
3398 por quatro minutos e contracorados com hematoxilina. As imagens foram capturadas
3399 por meio de câmera de Vídeo Sony[®], acoplada ao microscópio Olympus[®] Bx50, as
3400 quais foram submetidas ao aplicativo Gimp 2.0 para a quantificação por meio de
3401 Histograma RGB (Red-Green-Blue), o qual se baseia na intensidade de luminescência
3402 onde os tons dos pixels da imagem variam de 0 a 255, sendo que o tom 0 representa o
3403 escuro absoluto (menor luminescência), enquanto que o tom 255, representa o branco
3404 absoluto (maior luminescência) (OBERHOLZER et al., 1996; LEE et al., 2001).

3405

3406

3407 **2.5. Análise Química da Urina**

3408 Cinco fêmeas de cada grupo experimental foram acondicionadas individualmente
3409 em gaiolas metabólicas onde foram realizadas coletas de urina durante 24 horas. Foram
3410 analisados os seguintes parâmetros: Densidade, Ph, Leucócitos, Hemoglobina, Nitritos,
3411 Corpos Cetônicos, Bilirrubina, Urobilinogênio, Proteínas e Glicose, por meio da
3412 utilização de fitas reativas comerciais para Urinálise UriAction 10 - Ref. 122 (Labtest)
3413 aos 7°, 14° e 20° dias de prenhez.

3414

3415 **2.6. Hemograma**

3416 Foi coletado 1 mL de sangue aos 7°, 14° e 20° dia de prenhez em cinco fêmeas de
3417 cada grupo experimental por meio de contenção mecânica (Fluttert et al., 2000) através
3418 da punção da veia caudal lateral com uso de cateter (24G). As amostras foram
3419 armazenadas em microtubos com EDTA e cuidadosamente homogeneizadas por
3420 inversão de 5 a 8 vezes para evitar hemólise e a coagulação do sangue. Imediatamente
3421 após a coleta, foram levadas ao Hospital Veterinário da UFRPE para realização do
3422 hemograma.

3423

3424 **2.7. Bioquímica**

3425 Após jejum de 12 horas, foi coletado 1 mL de sangue aos 7°, 14° e 20° dia de
3426 prenhez em cinco fêmeas de cada grupo experimental. As amostras foram armazenadas
3427 em tubo específico para bioquímica e submetidas à centrifugação a uma temperatura de
3428 4 °C com a velocidade de 3000 rpm por 10 minutos para subsequente obtenção do soro
3429 que foi acondicionado à temperatura de -80 °C até o momento das dosagens. Para este
3430 fim, utilizou-se kits da Labtest®, segundo os catálogos (referências) especificados: Uréia
3431 (104-4/50), Creatinina (96-300), Proteínas totais (99-250), Albumina (19-1/250). A

3432 análise foi feita em triplicata em um analisador bioquímico automático (Labmax 240)
3433 no Laboratório de Patologia clínica da UFRPE.

3434

3435 **2.8. Estresse Oxidativo Plasmático**

3436 Foi coletado 1 mL de sangue aos 14° e 20° dia de prenhez em cinco fêmeas de
3437 cada grupo experimental. As amostras foram submetidas à centrifugação a uma
3438 temperatura de 4 °C com a velocidade de 3000 rpm por 10 minutos para subseqüente
3439 obtenção do plasma que foi acondicionado à temperatura de -80 °C até o momento das
3440 dosagens. Os níveis de óxido nítrico foram determinados por um método baseado na
3441 reação colorimétrica de Griess (GREEN et al. 1982), que envolveu a detecção do nitrito
3442 (NO²⁻) e a oxidação do Óxido Nítrico (NO) no plasma. Em duplicata, foram
3443 adicionados 50 µL de plasma a uma placa de 96 poços de ELISA, seguido pelo mesmo
3444 volume de reagente de Griess, que é composto por 1% de sulfanilamida, diluída em
3445 2,5% de H₃PO₄ e N-1-naftil-etilenodiamina, também diluído em H₃PO₄. Uma solução de
3446 nitrito de sódio em uma concentração inicial de 100 µL foi diluída serialmente em PBS
3447 para preparar a curva padrão. Após incubação por dez minutos no escuro, a leitura foi
3448 realizada em espectrofotômetro a 490 nm. A absorbância das diferentes amostras foi
3449 comparada com a curva padrão e os resultados foram expressos como a média ± erro
3450 padrão da duplicata, utilizando o software GraphPad Prism (v. 5.0).

3451

3452 **2.9. Estresse Oxidativo Renal**

3453 Fragmentos dos rins de cinco fêmeas de cada grupo experimental foram coletados
3454 ao término da gestação no momento do sacrifício dos animais. Em seguida congelados
3455 em nitrogênio líquido e armazenados em freezer -80 °C. No momento da dosagem, as
3456 amostras foram pesadas e homogeneizadas em solução de KCl 1, 15%, numa proporção

3457 de 10 mL/1g e o estresse oxidativo tecidual foi avaliado seguindo a metodologia de
3458 Vieira-Filho et al. (2009).

3459

3460 **2.10. Análise Estatística**

3461 Os dados da quantificação das fibras colágenas, estresse oxidativo tecidual,
3462 estresse oxidativo plasmático, IL- 6, TNF α e VEGF foram submetidos ao teste
3463 paramétrico ANOVA, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Os
3464 dados referentes a urinálise, bioquímica e hemograma foram submetidos ao teste não
3465 paramétrico de KruskalWallis, onde as médias obtidas foram comparadas pelo teste de
3466 Wilcoxon MannWhitney ($p < 0,05$).

3467

3468 **3. RESULTADOS**

3469 **3.1. Histoquímica**

3470 Em relação a quantidade de fibras colágenas nos rins, não foram evidenciadas
3471 diferenças significativas entre as fêmeas dos grupos estudados (Figuras 1 e 2).
3472 Entretanto no baço, as fêmeas do grupo II (DH) apresentaram aumento na quantidade
3473 dessas fibras, diferindo dos demais grupos experimentais (Figuras 3 e 4).

3474

3475 **3.2. Imunohistoquímica**

3476 A imunomarcção para IL-6 no baço demonstrou que as fêmeas do grupo II (DH)
3477 apresentaram um aumento nos níveis dessa citocina, diferindo significativamente das
3478 fêmeas dos grupos I (D) e IV (D + mel), porém mostrando-se semelhante ao grupo III
3479 (DH + mel) conforme observado na figuras 5 e 6. A quantificação de TNF- α neste
3480 mesmo órgão apresentou padrão de marcação semelhante a IL-6, promovendo um
3481 aumento significativo dessa citocina nas fêmeas do grupo II (DH) quando comparado

3482 com os demais grupos experimentais. Além disso, a administração da melatonina
3483 exógena nas fêmeas que receberam dieta hipercalórica, grupo III (DH+mel), promoveu
3484 uma redução na expressão do TNF- α , diferindo das fêmeas dos grupo I (D) e IV (D +
3485 mel) (Figuras 7 e 8).

3486 Analisando imunohistoquimicamente os rins, através da marcação por VEGF
3487 observou-se que na região cortical do órgão das fêmeas do grupo II (DH) apresentaram
3488 uma diminuição significativa de VEGF, diferindo das demais fêmeas dos grupos
3489 experimentais, porém a administração da melatonina exógena fez com que as fêmeas do
3490 grupo III (DH + mel) apresentassem um padrão de marcação semelhante as fêmeas do
3491 grupo controle. Essa administração de melatonina também promoveu um aumento
3492 significativo nas fêmeas do grupo IV (D + mel), sugerindo que esse hormônio participe
3493 do processo de vascularização de forma positiva (Figuras 9 e 10). Na região medular,
3494 assim como na cortical, observou-se que as fêmeas grupo II (DH) apresentaram
3495 diminuição na marcação de VEGF, quando comparado com as demais fêmeas dos
3496 grupos experimentais (Figuras.11 e 12).

3497

3498 **3.3. Urinálise**

3499 O estudo da urina e de seus componentes torna-se importante no sentido de
3500 avaliar a função renal e fornecer alguns indicativos sobre possíveis disfunções do trato
3501 urinário. Conforme descrito nas tabelas 3, 4 e 5, a urinálise realizada nas fêmeas dos
3502 grupos experimentais mostrou que ao 7^o dia de prenhez (Tabela 3) as fêmeas do grupo
3503 II (DH) diferiram estatisticamente das fêmeas dos demais grupos em relação a vários
3504 parâmetros, apresentando elevação significativa do número de leucócitos e da
3505 concentração de nitritos, bilirrubina e proteínas. As fêmeas dos grupos III (DH+mel) e
3506 IV (D+mel) apresentaram redução da concentração de bilirrubina e níveis de glicose,

3507 diferindo estatisticamente das fêmeas dos demais grupos, enquanto que as fêmeas do
3508 grupo IV (D+Mel), além destes parâmetros também diminuiu os níveis de nitrito. Em
3509 relação a glicose a redução ocorreu ao 7°, 14° e 20° dia de prenhez nas fêmeas dos
3510 grupos que receberam melatonina (Tabelas 3,4 e 5). Ao 14° dia de prenhez, as fêmeas
3511 do grupo II (DH) apresentaram aumento significativo no número de leucócitos, da
3512 concentração de nitritos, proteínas e níveis de glicose, porém demonstraram redução da
3513 concentração de corpos cetônicos quando comparado as fêmeas do grupo III (DH+mel).
3514 As fêmeas do grupo III (DH+mel) também apresentaram aumento significativo na
3515 concentração de nitritos em relação as fêmeas dos grupos I (D) e IV(D+mel), e um
3516 aumento ainda mais acentuado na concentração de corpos cetônicos, em relação as
3517 demais fêmeas dos grupos experimentais. Já as fêmeas do grupo IV (D+mel)
3518 apresentaram apenas uma redução nos leucócitos estando os demais parâmetros
3519 semelhantes aos valores observados nas fêmeas do grupo I (D). Ao 20° dia de prenhez
3520 as fêmeas do grupo II (DH) mantiveram os parâmetros observados ao 14° dia de
3521 prenhez. Nas fêmeas do grupo III (DH+mel) mostraram o número de leucócitos elevado
3522 em relação as fêmeas dos grupos I (D) e IV (D+mel), porém menor que as fêmeas do
3523 grupo II (DH). As fêmeas dos grupos III (DH+mel) e IV (D+mel) apresentaram
3524 elevação da concentração de corpos cetônicos durante este período de avaliação.

3525

3526 **3.4. Hemograma**

3527 No presente trabalho os dados referentes a contagem de leucócitos mostraram que
3528 ao 7° dia de prenhez as fêmeas do grupo IV (D+mel) mostraram redução significativa
3529 desse parâmetro em relação as fêmeas dos demais grupos, enquanto que as fêmeas do
3530 grupo II (DH) apresentaram elevação na quantidade de plaquetas. Estas condições
3531 foram também observadas ao 14° e 20° dia de prenhez. A concentração de hemoglobina

3532 corpuscular média (CHCM) mostrou-se aumentada ao 14° e 20° dia de prenhez nas
3533 fêmeas do grupo II (DH) (Tabelas 6,7 e 8).

3534 A contagem diferencial das células leucocitárias não revelou diferenças
3535 estatisticamente relevantes, com exceção das fêmeas do grupo IV (D+mel) que
3536 apresentaram neutropenia em relação as demais fêmeas dos grupos durante o 7°, 14° e
3537 20° dia de prenhez (Tabelas 9,10 e 11), enquanto que as fêmeas do grupo II (DH)
3538 apenas apresentaram linfocitose ao 14° dia de prenhez (Tabela 10).

3539

3540 **3.5. Bioquímica**

3541 Os resultados da análise bioquímica revelaram que ao 7° dia de prenhez não
3542 houve diferenças significativas entre as fêmeas dos grupos experimentais (Tabela 12).
3543 Ao 14° e ao 20° dia, porém, as fêmeas do grupo II (DH) apresentaram elevação dos
3544 níveis de uréia e creatinina, diferindo significativamente das fêmeas dos demais grupos
3545 (Tabelas 13 e 14).

3546

3547 **3.6. Estresse Oxidativo Plasmático e Renal**

3548 De acordo com as análises estatísticas realizadas não houveram diferenças
3549 significativas entre as fêmeas dos grupos estudados ao 14° e 20° dia de prenhez (Figuras
3550 13, 14 e 15).

3551

3552 **4. DISCUSSÃO**

3553 A urinálise é uma técnica utilizada como um recurso de triagem ou de diagnóstico
3554 que detecta anormalidades de substâncias e de células associadas a distúrbios renais ou
3555 metabólicos e infecções urinárias. Estudos indicam que elevado número de leucócitos na
3556 urina pode estar associado a algum tipo de infecção no trato urinário, enquanto que a
3557 presença de proteinúria é um forte sinal para doença de origem glomerular (MELO,

3558 2015) uma vez que em condições fisiológicas, as proteínas são 100% mantidas no
3559 sangue durante o processo de filtração glomerular e reabsorção tubular, não estando
3560 presentes na urina (GONZÁLEZ; SÉRGIO, 2008). Tais características foram
3561 observadas no presente estudo, onde os níveis de leucócitos e proteínas foram elevados
3562 nas fêmeas do grupo II (DH), indicando possíveis alterações no processo de formação
3563 da urina e sua correlação com a obesidade, enquanto que nas demais fêmeas dos grupos,
3564 que receberam dieta comum, tais alterações não foram observadas. Em um estudo
3565 realizado por Dobrian et al. (2000) e publicado pela American Heart Association
3566 (2000), no qual induziu-se um modelo de obesidade em ratos pela administração de
3567 dieta semelhante a ocidental, observou-se o desenvolvimento de hipertensão leve
3568 acompanhada de alterações vasculares e renais, o que corrobora com o presente
3569 trabalho, onde as fêmeas do grupo II (DH) apresentaram vários indicativos de
3570 disfunções ou lesões renais, confirmados pelo aumento nos níveis de bilirrubina, nitritos
3571 e corpos cetônicos.

3572 Sabe-se que a melatonina desempenha um importante papel na regulação do
3573 metabolismo energético, podendo prevenir ou reverter os efeitos nocivos da obesidade e
3574 das alterações metabólicas associadas (NDUHIRABANDI et al., 2012). Isto se encontra
3575 em conformidade com os achados deste trabalho, pois as fêmeas do grupo III (DH+mel)
3576 apresentaram redução significativa dos parâmetros avaliados. Em um estudo realizado
3577 por Cardinali et al. (2013) ratos com um quadro de Síndrome Metabólica tiveram suas
3578 alterações no peso corporal e na pressão arterial neutralizadas, bem como apresentaram
3579 redução na hiperglicemia ao serem suplementados com melatonina. Essa redução
3580 glicêmica foi observada nas fêmeas durante o 7º, 14º e 20º dia de prenhez nos grupos
3581 III (DH+mel) e IV (D+mel), demonstrando que a melatonina interfere de forma positiva
3582 no metabolismo dos carboidratos. A cetonúria ocorre quando os corpos cetônicos

3583 aumentam no plasma em decorrência de distúrbios no metabolismo de carboidratos e
3584 ácidos graxos (GONZÁLEZ; SÉRGIO, 2008), condição observada nas fêmeas dos
3585 grupos III (DH+mel) e IV (D+mel) ao 20º dia de prenhez. Isso provavelmente ocorreu
3586 devido a extrema redução glicêmica pela melatonina nas fêmeas nesses grupos desde o
3587 início do tratamento, levando-os a oxidar ácidos graxos ao invés de glicose e com isso
3588 ocorrendo a liberação das cetonas.

3589 A contagem das células do sangue tem sido uma informação importante, não
3590 somente para o diagnóstico de doenças, mas também como um “atestado de saúde” nos
3591 exames periódicos e no check-up (ROSENFELD, 2012). Alterações em células do
3592 sangue têm sido relatadas após casos de sobrepeso e obesidade, tanto em sua formação
3593 (hematopoiese), quanto em sua distribuição (GUERRA, 2013). A concentração de
3594 hemoglobina corpuscular média (CHCM) é um parâmetro utilizado para avaliar
3595 morfológicamente os tipos de anemia (LOPES; BIONDO; SANTOS, 2007), porém as
3596 fêmeas dos grupos II (DH) e IV (D+mel) não apresentaram parâmetros condizentes com
3597 um quadro anêmico, definido pela análise dos valores de hemácias, concentração de
3598 hemoglobina e hematócrito que se apresentaram dentro da normalidade em todos os
3599 grupos estudados.

3600 Segundo Dos Anjos; Barbosa (2015) a obesidade prejudica a função imune e
3601 altera o perfil das células hematológicas de ratas, mas o grau destas alterações é
3602 dependente do tempo de consumo da dieta obesogênica. O curto período de
3603 fornecimento da dieta hipercalórica poderia explicar a não alteração observada na
3604 maioria dos parâmetros hematológicos do presente trabalho. Nesse mesmo estudo
3605 realizado através da indução de obesidade por dieta em ratas, o número de plaquetas
3606 mostrou-se aumentado após oito semanas de tratamento e a quantidade dos leucócitos
3607 totais do sangue não foi alterada, condições estas observadas nas fêmeas do grupo II

3608 (DH) que tiveram um aumento do número de plaquetas durante o terço inicial, médio e
3609 final da prenhez, indicando que a dieta hipercalórica influenciou diretamente nesse processo.
3610 O volume plaquetário médio é considerado um indicador da atividade das plaquetas, seu
3611 aumento foi demonstrado em diversos eventos vasculares agudos e está relacionado
3612 com a obesidade. O aumento da ativação desses fragmentos celulares é conhecido por
3613 desencadear a aterosclerose e desempenha papel importante na sua progressão (DO
3614 PRADO JUNIOR et al., 2015) . No presente trabalho a melatonina atuou de forma
3615 eficaz na proteção das fêmeas do grupo III (DH+mel), que apresentaram concentração
3616 de plaquetas semelhantes as fêmeas dos grupos I (D) e IV(D+mel).

3617 A leucopenia e neutropenia apresentadas pelas fêmeas do grupo IV (D+mel)
3618 provavelmente ocorreu por se tratar de animais sem nenhum dano tecidual, e nas fêmeas
3619 desse grupo a melatonina exerceu efeitos imunomoduladores reduzindo o número de
3620 leucócitos e neutrófilos. Os neutrófilos não só desempenham um papel crítico como
3621 uma primeira linha de defesa contra infecções bacterianas e fúngicas , mas também
3622 contribuem para a lesão do tecido associada com doenças autoimunes e doenças
3623 inflamatórias em animais não-saudáveis. Quando humanos são tratados com melatonina
3624 eles mostram um aumento quimiotático dessas células e uma elevada expressão de
3625 quimiocinas intracelulares. Além disso, os leucócitos peritoneais possuem seus valores
3626 aumentados após uma injeção intraperitoneal de melatonina em ratos (CALVO;
3627 GONZÁLEZ-YANES; MALDONADO, 2013).

3628 Os estudos que tratam da atividade linfocitária durante a obesidade são
3629 controversos. Alguns apontam para um aumento do número de linfócitos na obesidade,
3630 outros referem não haver diferença nas células circulantes (O'ROURKE et al.,2005). De
3631 acordo com Chatzigeorgiou et al. (2012) estudos recentes têm implicado diferentes
3632 subgrupos de linfócitos na inflamação do tecido adiposo branco (TAB). Os níveis de

3633 TAB regulam a diminuição de células T durante o desenvolvimento da obesidade,
3634 podendo representar um fator crucial para a manutenção da sensibilidade à insulina.
3635 Além disso, a ativação das células T natural killers, promovem a resistência à insulina e
3636 inflamação do TAB. Estudos realizados por Grenha et al. (2013), porém, conseguiram
3637 estabelecer uma correlação positiva entre tecido adiposo e o número total de leucócitos,
3638 neutrófilos, monócitos e linfócitos, em acordo com esta pesquisa, onde os animais do
3639 grupo II (DH) ao 14° dia de prenhez desenvolveram linfocitose e esta pode ter ocorrido
3640 devido ao estado inflamatório apresentado pelas fêmeas, que provavelmente estavam
3641 desenvolvendo a obesidade.

3642 A avaliação bioquímica foi realizada com o objetivo de observar as funções
3643 renais, uma vez que valores aumentados de uréia e creatinina indicam aumento da
3644 destruição de proteínas no organismo, como ocorre na patologia renal, na obstrução
3645 urinaria (cálculo renal ou hipertrofia de próstata) ou na redução do fluxo sanguíneo
3646 renal (desidratação), enquanto valores diminuídos indicam desnutrição, hiperidratação
3647 ou lesão hepática severa (OM; HOHENEGGER, 1980). Segundo Al-habori et al. (2002)
3648 a creatinina é o principal indicador da função renal, e a elevação de seus níveis no
3649 sangue é observada principalmente quando há lesão dos néfrons funcionantes. Na
3650 pesquisa realizada, ao 7° dia de prenhez as fêmeas dos grupos não diferiram em relação
3651 ao nenhum dos parâmetros avaliados. Ao 14° e 20° dia porém, as fêmeas do grupo II
3652 (DH) apresentaram elevação nos níveis de creatinina, indicando que a obesidade
3653 encontra-se relacionada a esse processo de degeneração nefrótica. Esse achado está de
3654 acordo com Vianna et al. (2011) que afirmaram que inúmeros fatores estão associados à
3655 instalação e progressão da doença renal crônica, entre eles obesidade, hipertensão
3656 arterial e diabetes mellitus. As fêmeas do grupo II (DH) também apresentaram elevação
3657 dos níveis de glicose urinária, afirmando associação entre esses fatores. A melatonina

3658 exerceu uma atividade protetora em relação a esses parâmetros, pois as fêmeas do grupo
3659 III (DH+mel) mostraram-se semelhante as fêmeas dos grupos I (D) e IV (D+mel). Em
3660 um trabalho realizado por Sutken et al. (2007), sobre o estresse oxidativo e fibrose
3661 induzida por ocratoxina em ratos Zucker, foi demonstrado que a melatonina, a uma
3662 dosagem de 10 mg / kg, reduziu a degeneração do parênquima e estroma no fígado e
3663 rim. No presente trabalho, mesmo utilizando uma dose vinte vezes mais baixa, a
3664 melatonina exerceu os mesmos efeitos de defesa.

3665 Pacientes obesos comumente possuem um desequilíbrio entre gordura, peso
3666 corporal, lipoproteínas e lipídios, o que interfere na suscetibilidade do organismo a
3667 lesões oxidativas. É sabido que existem pelo menos três mecanismos através dos quais a
3668 obesidade pode produzir peroxidação lipídica: através do aumento do consumo de
3669 oxigênio aumentando, conseqüentemente, a produção de espécies reativas de oxigênio
3670 (ROS) e as defesas antioxidantes são insuficientes (TURRENS, 1997); através da lesão
3671 celular progressiva e cumulativa devido à pressão pela grande massa corporal causando
3672 injúria celular e liberando citocinas como o fator de necrose tumoral responsável por
3673 gerar ROS (LECHIEITNER et al., 2000); e alterando o metabolismo do oxigênio
3674 através de uma dieta hiperlipêmica, pois as moléculas dos ácidos graxos com duplas
3675 ligações são vulneráveis a reações oxidativas e conseqüentemente podem levar a
3676 peroxidação lipídica (NEVES, 2010). Os efeitos de dietas hipercalóricas sobre o peso
3677 corporal e o consumo alimentar apresentam resultados controversos na literatura,
3678 principalmente devido ao tempo de administração. Em um estudo realizado por
3679 Burneiko et al. (2006) dietas ricas em gordura reduzem a eficiência alimentar e
3680 aumentam a eficiência metabólica, o que pode explicar porque a dieta hipercalórica não
3681 apresentou resultados estatisticamente significantes sobre o ganho de peso nas fêmeas
3682 deste trabalho. Porém em outra pesquisa realizada por Duarte et al. (2006) os animais

3683 alimentados com dieta hipercalórica apresentaram aumento no peso relativo dos tecidos
3684 adiposos brancos epididimal, retroperitoneal e visceral, indicando aumento na
3685 adiposidade central e visceral. Estudos demonstram que o aumento da ingestão calórica
3686 é um fator importante para a diminuição da fluidez da membrana mitocondrial
3687 induzindo assim o estresse oxidativo (ESPOSITO; MELOV; PANOVA, 2006) e, embora
3688 o estresse oxidativo seja frequentemente um mecanismo proposto em vários órgãos
3689 afetados pela obesidade incluindo o rim (WEINBERG, 2011), ainda permanecem não
3690 compreendidos seus mecanismos na obesidade induzida por dieta (WICKS et al., 2015).
3691 No nosso trabalho não observamos nenhuma diferença entre os grupos estudados,
3692 provavelmente devido ao curto tempo de tratamento realizado. Em humanos, foi
3693 demonstrado que em mulheres ocorrem picos de estresse oxidativo durante o segundo
3694 trimestre de gravidez, terminando o que parece ser um período vulnerável para a saúde
3695 fetal e o progresso gestacional (CASANUEVA; VITERI, 2003). Desta forma, por essa
3696 razão só avaliamos o estresse oxidativo a partir do terço médio gestacional, mas mesmo
3697 assim não foram vistas diferenças significativas.

3698 Vários estudos indicam que o consumo de dietas hipercalóricas é um dos fatores
3699 responsáveis pela promoção de disfunções e evolução de lesões renais. Em um trabalho
3700 realizado em ratas ovariectomizadas e alimentadas com esse tipo de dieta durante 24
3701 semanas, foi demonstrado que os animais apresentaram infiltrado de células
3702 inflamatórias, atrofia e dilatação tubular e fibrose intersticial. Ainda de acordo com esse
3703 estudo o fornecimento desta dieta por um período mais prolongado pode causar lesões
3704 mais pronunciadas da estrutura renal com maior extensão de fibrose e acometimento dos
3705 glomérulos e túbulos renais nesses animais (AMARAL, 2013). A hiperglicemia,
3706 condição observada nas fêmeas do grupo II (DH) pode ser responsável pela
3707 hiperfiltração renal, por aumentar a pressão capilar glomerular e por promover a

3708 proliferação celular regulada pela liberação do fator de crescimento TGF- α , que, por sua
3709 vez medeia tanto a hipertrofia e a divisão celular quanto o processo de fibrose renal
3710 mais tardiamente, através da estimulação da produção de colágeno e fibronectina
3711 (VIANA; RODRIGUEZ. 2013). No nosso trabalho, por sua vez, não observamos
3712 diferenças estatisticamente significativas na deposição de fibras colágenas nos rins dos
3713 animais, e isso provavelmente está relacionado a essa deposição ser tempo-dependente.
3714 Porém apesar do curto tempo de consumo, a dieta hipercalórica promoveu
3715 desenvolvimento de fibrose no baço das fêmeas do grupo II (DH). Durante o processo
3716 de fibrogênese atuam vários promotores como a IL-6 e TNF- α e seus aumentos foram
3717 observados por imunohistoquímica nas fêmeas desse grupo, evidenciando o acúmulo de
3718 fibras colágenas. A melatonina diminui o estresse oxidativo e essas citocinas pró-
3719 inflamatórias em vários órgãos sendo também responsável por estimular a IL-10
3720 considerada uma citocina anti-inflamatória. A redução da produção dessas citocinas
3721 pela melatonina é relacionada a inibição de NF- κ B nas células inflamatórias. Além
3722 disso, o TGF β e outros marcadores como o pró colágeno I que aumentam durante o
3723 desenvolvimento da fibrose são atenuados ou até normalizados pela melatonina
3724 (RODELLA et al. 2010; CRESPO et al., 2015; YEUNG et al., 2015), o que pode ser
3725 observado nas fêmeas do grupo III (DH + mel) em relação as fêmeas do grupo II (DH).

3726 O VEGF (Fator de crescimento endotelial vascular) é um fator específico que
3727 promove a proliferação, diferenciação e sobrevivência de células endoteliais mediada
3728 pela vasodilatação endotélio-dependente, induz hiperpermeabilidade microvascular e
3729 participa de remodelação da matriz intersticial (SCHRIJVERS; FLYVBJERG; DE
3730 VRIESE, 2004). Em rins de roedores e humanos o VEGF é encontrado
3731 predominantemente nos podócitos glomerulares, túbulos distais, e ductos coletores
3732 (CHA et al., 2000) e, de acordo com Schrijvers; Flyvbjerg e De Vriese (2004), a

3733 diminuição desse fator está associada ao desenvolvimento de diversas alterações renais,
3734 como glomeruloesclerose e fibrose tubulointersticial. Em alguns trabalhos foi
3735 demonstrado que a obesidade promove um aumento desse fator nos rins de animais que
3736 recebem dieta rica em gordura (JIANG et al., 2005; JENKIN et al., 2014). Entretanto,
3737 em nosso trabalho, as fêmeas do grupo II (DH) mostraram que a obesidade promoveu a
3738 diminuição do VEGF, tanto na região cortical como na região medular, embora
3739 alterações não tenham sido observadas. Em vários modelos animais de doença renal, a
3740 expressão do VEGF no rim é diminuída e a administração de VEGF exerce uma ação
3741 protetora sobre o órgão (DOI; NOIRI; FUJITA, 2010). Em nosso trabalho, a
3742 administração da melatonina exógena promoveu um aumento na marcação desse fator,
3743 como foi observado em outros modelos de indução de lesão renal. Pesquisas realizada
3744 por Borges et al. (2015) em ratos submetidos a exercícios exaustivos revelaram um
3745 aumento significativo nas concentrações de VEGF (179%) em músculo esquelético no
3746 grupo que recebeu melatonina em comparação ao controle. Aumento esse que também
3747 foi observado em animais com lesão renal isquêmica que receberam melatonina
3748 (PATSHAN et al., 2012). Dessa forma, mais estudos sobre a atuação da melatonina
3749 sobre os níveis de VEGF no rim em condições de obesidade são necessários.

3750

3751 **5. CONCLUSÃO**

3752 Através do nosso trabalho podemos concluir que a melatonina atua como uma
3753 alternativa terapêutica eficiente na prevenção e proteção contra vários aspectos
3754 relacionados às comorbidades desenvolvidas durante a obesidade, como patologias
3755 renais e alterações no sistema imunológico quando fêmeas são consumidoras de dietas
3756 hipercalóricas.

3757

3758 **6. REFERÊNCIAS**

- 3759 AL-HABORI, M.; AL-AGHBARI, A.; AL-MAMARY, M.; BAKER, M. Toxicological
3760 evaluation of *Catha edulis* leaves: a long term feeding experiment in animals. **J**
3761 **Ethnopharmacol**, v. 83, n. 3, p. 209- 217, 2002.
- 3762 AMARAL, L. S. B. Efeitos da dieta hiperlipídica sobre a função, estrutura e o perfil
3763 inflamatório renal em ratas ovariectomizadas. Dissertação apresentada ao Programa
3764 Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas/ Sociedade Brasileira de
3765 Fisiologia, Universidade Federal da Bahia, 2013.
- 3766 ATHUKORALA, C.; RUMBOLD, A.R.; WILLSON, K.J.; CROWTHER, C.A. The
3767 risk of adverse pregnancy outcomes in women who are overweight or obese. **BMC**
3768 **Pregnancy and Childbirth**. v. 10(56). p.2-8, 2010.
- 3769 BORGES, L. D.; DERMARGOS, A.; SILVA JÚNIOR, E. P.; WEIMANN,
3770 E.; LAMBERTUCCI, R. H.; HATANAKA, E. Melatonin decreases muscular oxidative
3771 stress and inflammation induced by strenuous exercise and stimulates growth factor
3772 synthesis. **Journal of Pineal Research**. v.58(2). p.166–172, 2015.
- 3773 BRYDON, L.; PETIT, L.; DELAGRANGE, P.; STROSBERG, A. D.; JOCKERS, R.
3774 Functional expression of MT2 (Mel1b) melatonin receptors in human PAZ6 adipocytes.
3775 **Endocrinology**, v.142 (10), p.4264-4271, 2001.
- 3776 BURNEIKO, R.C.M.; DINIZ, Y. S.; GALHARDI, C. M.; RODRIGUES, H. G.;
3777 EBAID, G.M.X.; FAINE, L. A.; PADOVANI, C. R.; CICOGNA, A. C.; NOVELLI, E.
3778 L. B. Interaction of hypercaloric diet and physical exercise on lipid profile, oxidative
3779 stress and antioxidant defenses. **Food Chem Toxicol**. v. 44(7). p.1167-72., 2006.
- 3780 CALVO, J. R.; GONZÁLEZ-YANES, C.; MALDONADO, M. D. The role of
3781 melatonin in the cells of the innate immunity: a review. **Journal of pineal research**, v.
3782 55, n. 2, p. 103-120, 2013.
- 3783 CARDINALI, D. P.; BERNASCONI, P. A. S.; REYNOSO, R.; TOSO, C. F. R.;
3784 SCACCHI, P. Melatonin may curtail the metabolic syndrome: studies on initial and
3785 fully established fructose-induced metabolic syndrome in rats. **International journal of**
3786 **molecular sciences**, v.14(2). p. 2502-2514, 2013.
- 3787 CARRILO-VICO, A.; CALVO, J. R.; ABREU, P.; LARDONE, P. J.; GARCIA-
3788 MAURIÑO, S.; CHOI, W. S.; CHO, G. J.; WON, C. K.; KOH, P. O. Expression of
3789 melatonin growth factors mRNA in the rat placenta during mid-late pregnancy. **J.**
3790 **Veterinary Sci.**, v. 6, p. 179-183, 2005.

3791 CASANUEVA E.; VITERI F. E. Iron and oxidative stress in pregnancy. **J Nutr.** v.133.
3792 n.5. p.1700-1708, 2003.

3793 CHA, D. R.; KIM, N. H.; YOON, J. W.; JO, S. K.; CHO, W. Y.; KIM, H. K.; WON, N.
3794 H. Role of vascular endothelial growth factor in diabetic nephropathy. **Kidney Int.** v. 58
3795 (Suppl 77). p.104–S112, 2000.

3796 CHATZIGEORGIOU, A.; KARALIS, K. P.; BORNSTEIN, S. R.; CHAVAKIS, T.
3797 Lymphocytes in obesity-related adipose tissue inflammation. **Diabetologia**, v.55(10). p.
3798 2583-2592, 2012.

3799 CIPOLLA-NETO, J.; AMARAL, F. G.; AFECHÉ, S. C.; TAN, D. X.; REITER, R. J.
3800 Melatonin, energy metabolism, and obesity: a review. **Journal of pineal research.**
3801 v.56(4). p. 371-381, 2014.

3802 CRESPO, I.; SAN-MIGUEL, B.; FERNÁNDEZ, A.; ORTIZ DE URBINA J.;
3803 GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; TUÑÓN, M.J. Melatonin limits the expression of
3804 profibrogenic genes and ameliorates the progression of hepatic fibrosis in mice. **Transl**
3805 **Res.** v.165(2). p.346-57, 2015.

3806 DO PRADO JUNIOR, P. P.; DE FARIA, F. R.; DE FARIA, E. R.; FRANCESCHINI,
3807 S. D. C. C.; PRIORE, S. E. Leucócitos como marcadores de risco para doenças
3808 cardiovasculares na adolescência: associação com características de nascimento,
3809 situação nutricional e exames bioquímicos. **Revista Paulista de Pediatria**, 2015.

3810 DOI, K.; NOIRI, E.; FUJITA, T. Role of vascular endothelial growth factor in kidney
3811 disease. **Curr Vasc Pharmacol.** v.8(1). p.122-8, 2010.

3812 DOBRIAN, A. D.; DAVIES, M. J.; PREWITT, R. L.; LAUTERIO, T. J. Development
3813 of hypertension in a rat model of diet-induced obesity. **Hypertension.** v. 35(4). p. 1009-
3814 1015, 2000.

3815 DOS ANJOS, C. S.; BARBOSA, A. F. S. Avaliação da agregação plaquetária em
3816 pacientes diabéticos em um laboratório de análises clínicas em belém-pa1. **Revista**
3817 **Paraense de Medicina**, v. 29, n. 1, p. 17, 2015.

3818 DUARTE, A. C. G. D. O.; FONSECA, D. F.; MANZONI, M. S. J.; SOAVE, C. F.;
3819 SENE-FIORESE, M.; DÂMASO, A. R.; CHEIK, N. C. High-fat diet and secretory
3820 capacity of insulin in rats. **Revista de Nutrição.** v. 19(3). p. 341-348, 2006.

3821 ESPOSITO, L.A.; MELOV, S.; PANOV, A. Mitochondrial disease in mouse results in
3822 increased oxidative stress. **Proceedings of the National Academy Sciences.** v. 96. p.
3823 4820-4825, 1999.

3824 FLUTTERT, M.; DALM, S.; OITZL, M.S.A refined method for sequential blood
3825 sampling by tail incision in rats. **Lab. Anim.** v. 34, p. 372 - 378, 2000.

3826 FONSECA, M. R. C. C.; TRALDI, M. C. Sobrepeso e obesidade pré-gestacionais:
3827 Repercussões sobre a gestação e parto. **Revista Saúde-UnG**, v. 8, n. 3-4, p. 26-36,
3828 2015.

3829 FORD, E.S.; AJANI, U.A.; MOKDAD, A.H. Brief communication: The prevalence of
3830 high intake of vitamin E from the use of supplements among U.S. adults. **Annals of**
3831 **internal medicine**.v.143(2). p.116-20, 2005.

3832 GONZÁLEZ, FÉLIX H. DIAZ; SILVA, SÉRGIO CERONI DA. Patologia Clínica
3833 Veterinária: Texto introdutório, Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da
3834 UFRGS Porto Alegre. 2008. 342 p. Disponível em:
3835 http://www.ufrgs.br/lacvet/livros/Analises_Clinicas_Vet.pdf. Acesso em: 12/01/2016.

3836 GOTOH, K.; INOUE, M.; MASAKI, T.; CHIBA, S.; SHIMASAKI, T.; ANDO, H.,
3837 SAKATA, T. A novel anti-inflammatory role for spleen-derived interleukin-10 in
3838 obesity-induced inflammation in white adipose tissue and liver. **Diabetes**. v. 61(8).
3839 p.1994-2003, 2012.

3840 GREEN, L. C.; WAGNER, D. A.; GLOGOWSKI, J.; SKIPPER, P. L.; WISHNOK, J.
3841 S.; TANNENBAUM, S. R. "Analysis of nitrate, nitrite, and [¹⁵N]nitrate in biological
3842 fluids," **Analytical Biochemistry**, v. 126, n. 1, p. 131–138, 1982.

3843 GREHA, A. I.; ALVES, F.; RIBEIRO, F.; CAVACO, T. Obesidade e
3844 imunodepressão: Factos e números. **Arquivos de Medicina**. v. 27(5). p.192-202, 2013.

3845 GUARNIERI, G.; ZANETTI, M.; VINCI, P.; CATTIN, M.R.; PIRULLI, A.;
3846 BARAZZONI, R. Metabolic syndrome and chronic kidney disease.**Journal of renal**
3847 **nutrition : the official journal of the Council on Renal Nutrition of the National**
3848 **Kidney Foundation**. v. 20. p.19-23, 2010.

3849 GUERRA, R.L.F. Relação entre perfil lipídico e hematológico com índices de
3850 adiposidade corporal em adolescentes obesos. **Rev Bras Hematol Hemoter**. v. 35.
3851 p.153-162, 2013.

3852 GUIMARÃES-SOUZA, N. K.; YAMALEYEVA, L. M.; LU, B.; DE SOUZA RAMOS,
3853 A. C. M.; BISHOP, C. E.;ANDERSSON, K. E. Produção aumentada de superóxido e
3854 fibrose renal: novo modelo animal. **Einstein**, v.13(1), 2015.

3855 JENKIN, K. A.; O'KEEFE, L.; SIMCOCKS, A.C.; BRIFFA, J. F.; MATHAI, M. L.;
3856 MCAINCH, A. J.; HRYCIW, D.H.; Renal effects of chronic

3857 pharmacological manipulation of CB2 receptors in rats with diet-induced obesity. **Br J**
3858 **Pharmacol.** 2014.

3859 JIANG, T.; WANG, Z.; PROCTOR, G.; MOSKOWITZ, S.; LIEBMAN, S.E.;
3860 ROGERS, T.; LUCIA, M.S.; LI, J.; LEVI, M. Diet-induced obesity in C57BL/6J mice
3861 causes increased renal lipid accumulation and glomerulosclerosis via a sterol regulatory
3862 element-binding protein-1c-dependent pathway. **J Biol Chem.** v.280(37). p.32317-
3863 32325, 2005.

3864 HSU, C.Y.; MC CULLOCH, C.E.; IRIBARREN, C.; DARBINIAN, J.; GO, A.S. Body
3865 mass index and risk for end-stage renal disease. **Annals of internal medicine.** v. 144
3866 (1). p. 21-28, 2006.

3867 JÚNIOR, O.; SABINO, A. D. P.; FIGUEIREDO, R. C.; RIOS, D. R. A. Inflammation
3868 and poor response to treatment with erythropoietin in chronic kidney
3869 disease. **Jornal Brasileiro de Nefrologia.** v. 37(2). p. 255-263, 2015.

3870 KIM, Y. S.; JOO, W. S.; JIN, B. K.; CHO, Y. H.; BAIK, H. H.; PARK, C. W.,
3871 Melatonin protects 6-OHDA- induced neuronal death of nigrostriatal dopaminergic
3872 system. **Neuroreport.** v. 9, n.10, p. 2387- 2390, 1998.

3873 LECHIEITNER, M.; KOCH, T.; HAROLD, M.; DZIEN, A.; HOPPIAHLER, F.
3874 Tumour necrosis factor-alpha plasma level in patients with type 1 diabetes mellitus and
3875 its association with glycaemic control and cardiovascular risk factors. **J Intern Med.**
3876 v.248. p.67-76, 2000.

3877 LEE, E. S.; KIM, J. H.; IM, S.; LEE, K. B.; SOHN, S.; KANG, W. H. Application of
3878 computerized image analysis in pigmentary skin diseases. **International Journal of**
3879 **Dermatology.** v. 40, p. 45-9, 2001.

3880 LOPES, S.T.A.; BIONDO, A.W.; SANTOS, A.P. 2007. Manual de Patologia Clínica
3881 Veterinária. 3 Ed. Santa Maria: UFSM, 2007, 204 p.

3882 MELO, CAROLINE VILAS BOAS DE. "Marcadores de necrose tubular aguda e lesão
3883 inflamatória glomerular no sedimento urinário de pacientes com síndrome nefrótica."
3884 (2015). Dissertação apresentada ao Curso de Pós Graduação em Biotecnologia em
3885 Saúde e Medicina Investigativa. Fundação Oswaldo Cruz - Centro de pesquisas
3886 Gonçalo Moniz.

3887 NDUHIRABANDI, FREDERIC.; DU TOIT, E. F.; LOCHNER, A. Melatonin and the
3888 metabolic syndrome: a tool for effective therapy in obesity-associated abnormalities?.
3889 **Acta physiologica,** v. 205, n. 2, p. 209-223, 2012.

3890 NEVES, C.F. Avaliação de biomarcadores de estresse oxidativo e estado inflamatório
3891 em pacientes no pré e pós-operatório de cirurgia da obesidade. Dissertação apresentada
3892 ao curso de Pós-graduação em Nutrição Humana- Departamento de Nutrição.
3893 Universidade de Brasília; 2010.

3894 O'ROURKE, R.W.; KAY, T.; SCHOLZ, M.H.; DIGGS, B.; JOBE, B.A.;
3895 LEWINSOHN, D.M.; BAKKE, A.C. Alterations in T-cell subset frequency in
3896 peripheral blood in obesity. **Obes Surg.** v.15(10). p.1463-8, 2005.

3897 OBERHOLZER, M.; OSTREICHER, M.; CHRISTEN, H.; BRÜHLMANN, M.
3898 Methods in quantitative image analysis. **Histochemistry and cell biology.** v.105(5).
3899 p.333-355, 1996.

3900 OM, P.; HOHENEGGER, M. Energy metabolism in acute uremic rats. **Nephron.**
3901 v.25(5). p.249-53, 1980.

3902 PATSCHAN, D.; HILDEBRANDT, A.; RINNEBURGER, J.; WESSELS, J.T.;
3903 PATSCHAN, S.; BECKER, J. U.; HENZE, E.; KRUGER, A.; MULLER, G. A. The
3904 hormone melatonin stimulates renoprotective effects of “early outgrowth” endothelial
3905 progenitor cells in acute ischemic kidney injury. **Am J Physiol Renal Physiol.** v. 302.
3906 p.1305–1312, 2012.

3907 REPETTO, G.; RIZZOLLI, J.; BONATTO, C. Prevalência, Riscos e Soluções na
3908 Obesidade e Sobrepeso: Here, There, and Everywhere. **Arq Bras Endocrinol**
3909 **Metabol.** v.47(6). p.633-5, 2003.

3910 RODELLA, L.F.; FILIPPINI, F.; BONOMINI, F.; BRESCIANI, R.; REITER, R.J.;
3911 REZZANI, R. Beneficial effects of melatonin on nicotine-induced vasculopathy. **J**
3912 **Pineal Res.** v.48(2). p.126-32, 2010.

3913 ROSENFELD, R. Hemograma-Complete blood count. **J Bras Patol Med Lab.** v.48,
3914 n.4, 2012.

3915 ROSINI, T. C.; SILVA, A. S. R. D.; MORAES, C. D. Diet-induced obesity: rodent
3916 model for the study of obesity-related disorders. **Revista da Associação Médica**
3917 **Brasileira.** v.58(3). p.383-387, 2012.

3918 SCHRIJVERS, B. F.; FLYVBJERG, A.; DE VRIESE, A. S. The role of vascular
3919 endothelial growth factor (VEGF) in renal pathophysiology. **Kidney international,** v.
3920 65, n. 6, p. 2003-2017, 2004.

3921 SHATSKIKH, O.A.; LUZIKOVA, E.M. Morpho-functional reaction of spleen natural
3922 killer cells and macrophages to melatonin administration to the animals kept on different
3923 illumination regimens. **Morfologia**. v.141. p. 43–46, 2012.

3924 SUTKEN, E.; ARAL, E.; OZDEMIR, F.; USLU, S.; ALATAS, O.; COLAK, O.
3925 Protective role of melatonin and coenzyme Q10 in ochratoxin A toxicity in rat liver and
3926 kidney. **International journal of toxicology**. v.26(1). p.81-87, 2007.

3927 TAN, D.; REITER, R. J.; MANCHESTER, L. C.; YAN, M.; EL-SAWI,M.; SAINZ, R.
3928 M.; MAYO, J.C.; KOHEN, R.; ALLEGRA,M.C.; HARDELAND,R. Chemical and
3929 physical properties and potential mechanisms:melatonin as a broad spectrum
3930 antioxidant and free radical scavenger. **Curr. Top. Med. Chem**. v.2, n.2, p.181-197,
3931 2002.

3932 TRUFAKIN, V.A.; SHURLYGINA, A.V.; DUSHKIN, M.I.; KHRAPOVA, M.V.;
3933 MICHURINA, S.V.; MEL'NIKOVA, E.V.; PANTELEEVA, N.G.; TENDITNIK, M.V.
3934 Effect of melatonin on cellular composition of the spleen and parameters of lipid
3935 metabolism in rats with alimentary obesity. **Bull Exp Biol Med**. v. 158(1). p.42-5,
3936 2014.

3937 TURRENS, J.F. Superoxide production by the mitochondrial respiratory chain. **Biosci**
3938 **Rep**. v.17. p. 3-8, 1997.

3939 VIANA, M. R.; RODRIGUEZ, T. T. Complicações cardiovasculares e renais no
3940 diabetes mellitus. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 10, n. 3, p. 290-296,
3941 2012.

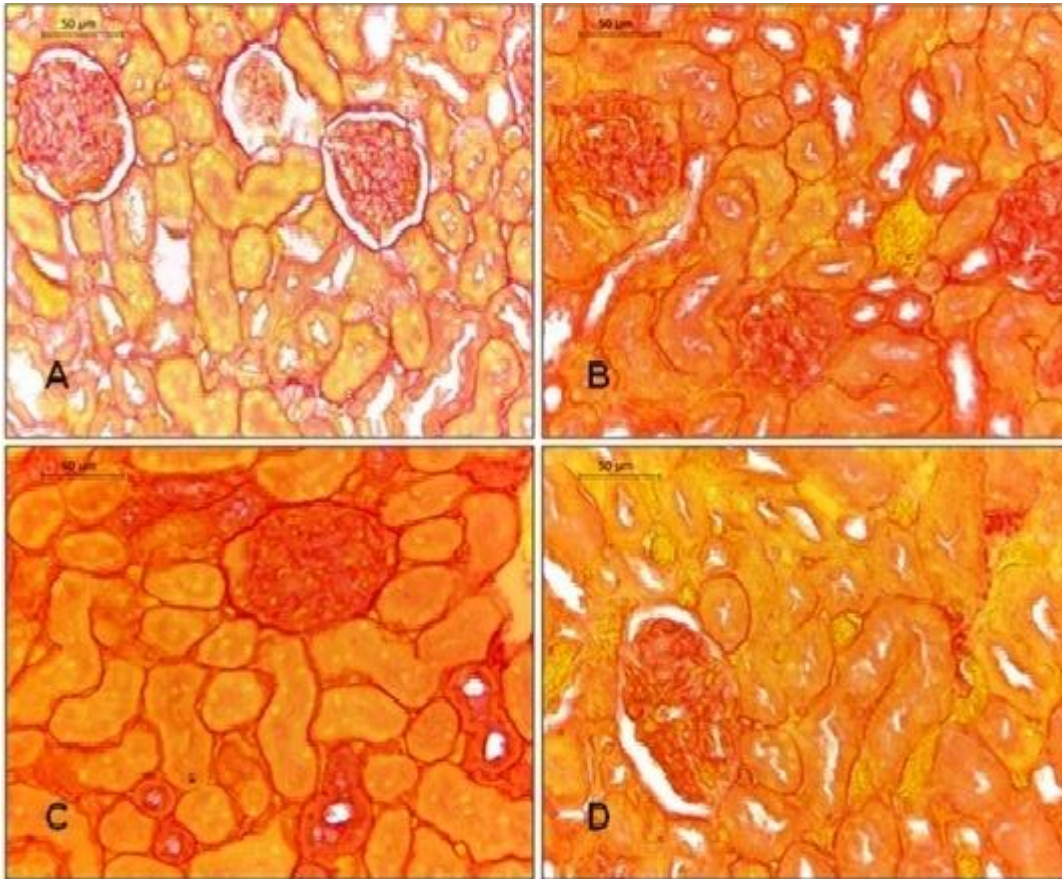
3942 VIANNA, H. R.; SOARES, C. M. B. M.; TAVARES, M. S.; TEIXEIRA, M. M.;
3943 SILVA, A. C. S. Inflammation in chronic kidney disease: the role of cytokines. **Jornal**
3944 **Brasileiro de Nefrologia**. v. 33(3). p.351-364, 2011.

3945 VIEIRA-FILHO, L.D.; LARA, L.S.; SILVA, P.A. LUZARDO, R. EINICKER-
3946 LAMAS, M.; CARDOSO, H.D.; PAIXÃO, A.D. VIEYRA,A. Placental oxidative stress
3947 in malnourished rats and changes in kidney proximal tumule sodium ATPases in the
3948 offspring. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol**. v.36.p.1157-1163, 2009.

3949 WAHBA, I.M.; MAK, R.H. Obesity and obesity-initiated metabolic syndrome:
3950 mechanistic links to chronic kidney disease. **Clinical journal of the American Society**
3951 **of Nephrology**. v.2(3). p.550-62, 2007.

3952 WEINBERG, J.M. Mitochondrial biogenesis in kidney disease, **J. Am. Soc. Nephrol**.
3953 v.22(3) 431 - 436, 2001.

3954 WICKS, S. E.; NGUYEN, T. T.; BREAUX, C.; KRUGER, C.; STADLER, K. Diet-
3955 induced obesity and kidney disease–In search of a susceptible mouse model. **Biochimie.**
3956 p. 1 -9, 2015.
3957 YEUNG, H.M.; HUNG, M.W.; LAU, C.F.; FUNG, M.L. Cardioprotective effects of
3958 melatonin against myocardial injuries induced by chronic intermittent hypoxia in rats. **J**
3959 **Pineal Res.** v.58(1). p.12-25, 2015.
3960



3961

3962 **Figura 1:** Fotomicrografia das fibras colágenas nos rins das fêmeas dos grupos experimentais.

3963 Coloração por Sirius Red. A: Dieta Comum, B: Dieta Hipercalórica, C: Dieta Comum +

3964 Melatonina e D: Dieta Comum + Melatonina.

3965

3966

3967

3968

3969

3970

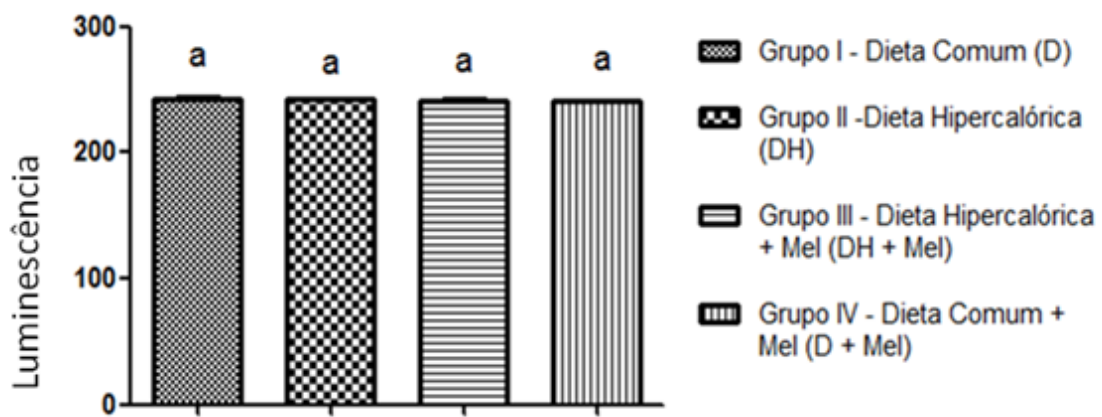
3971

3972

3973

3974

3975

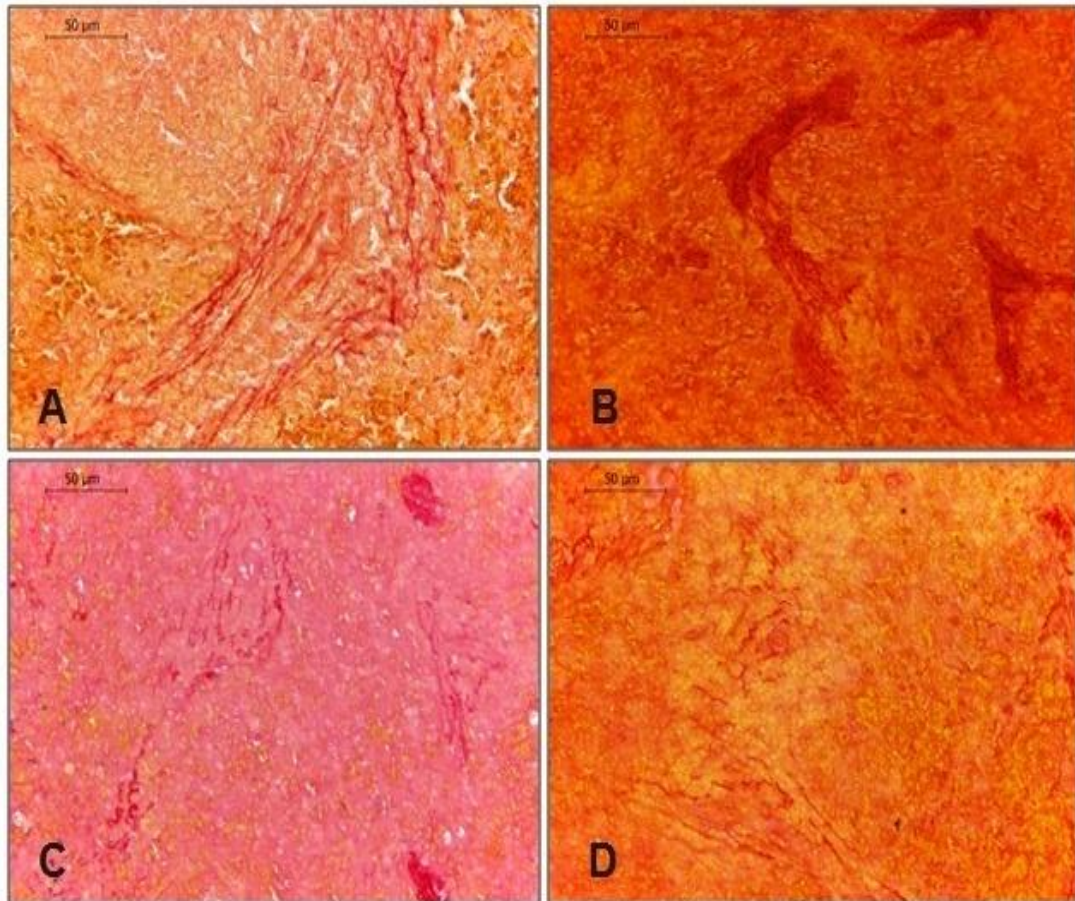


3976 **Figura 2:** Quantificação de fibras colágenas nos rins das fêmeas dos grupos experimentais.

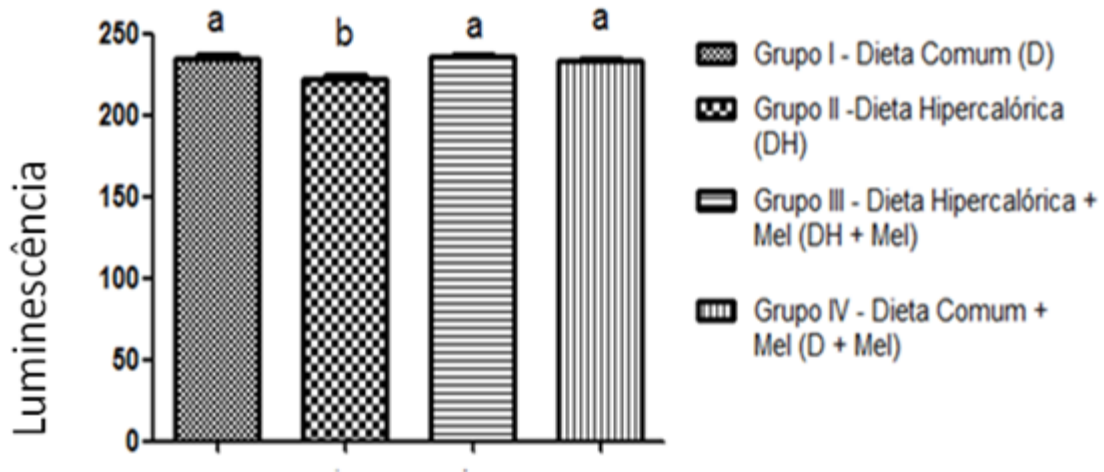
3977 Coloração Sirius Red. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si

3978 pelo teste de ANOVA seguido pelo pos hoc de Tukey ($P < 0,05$).

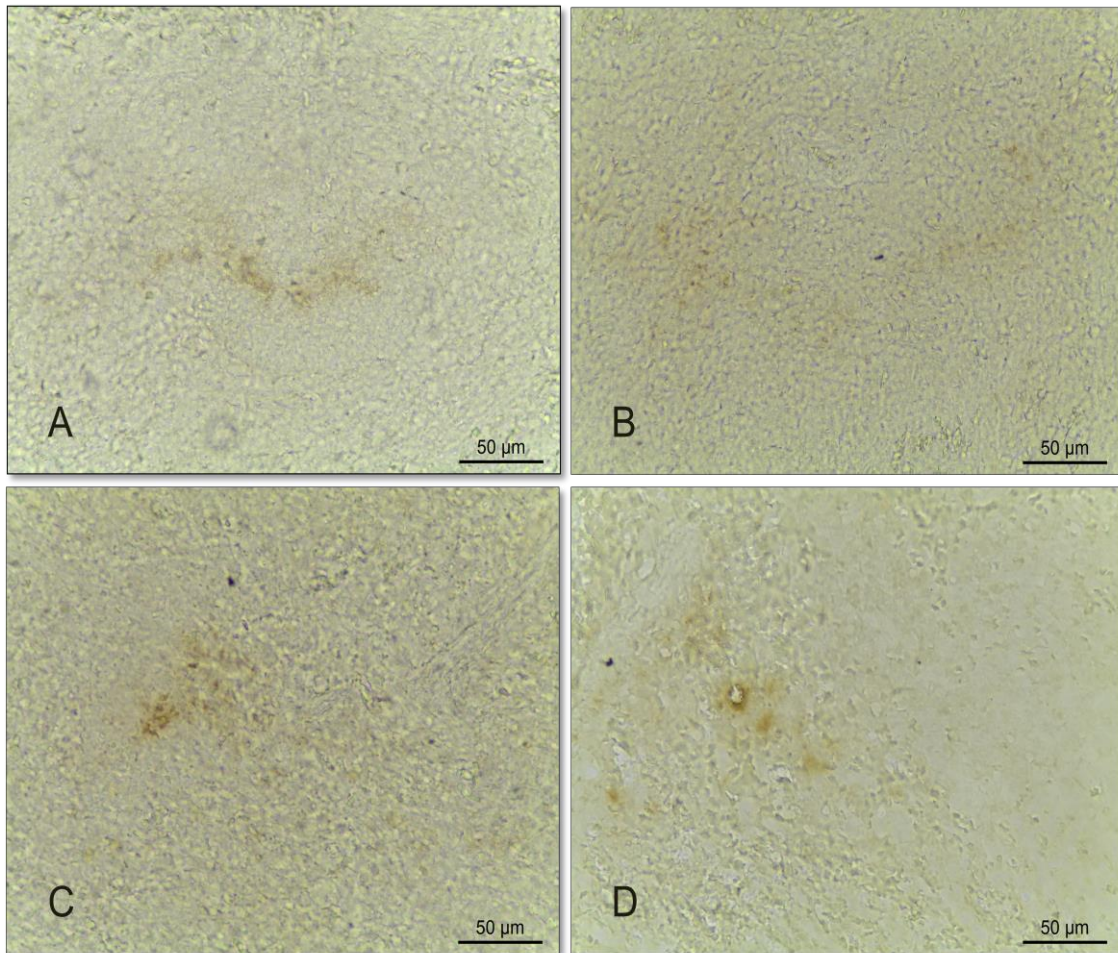
3979



3980
 3981 **Figura 3:** Fotomicrografia das fibras colágenas no baço das fêmeas dos grupos experimentais.
 3982 Coloração por Sirius Red. A: Dieta Comum, B: Dieta Hipercalórica, C: Dieta Comum +
 3983 Melatonina e D: Dieta Comum + Melatonina.



3994
 3995 **Figura 4:** Quantificação de fibras colágenas no baço das fêmeas dos grupos experimentais.
 3996 Coloração Sirius Red. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si
 3997 pelo teste de ANOVA seguido pelo pos hoc de Tukey ($P < 0,05$).



3998

3999

4000

4001

4002

4003

4004

4005

4006

4007

4008

4009

4010

4011

4012

4013

4014

Figura 5: Fotomicrografia do baço das fêmeas dos grupos experimentais. Imunohistoquímica para IL-6. A: Dieta Comum, B: Dieta Hipercalórica, C: Dieta Comum + Melatonina e D: Dieta Comum + Melatonina.

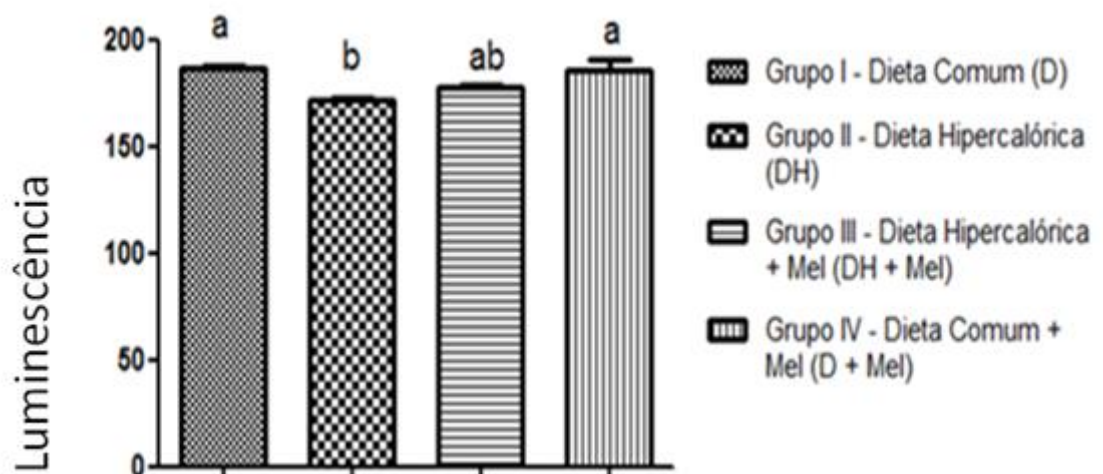
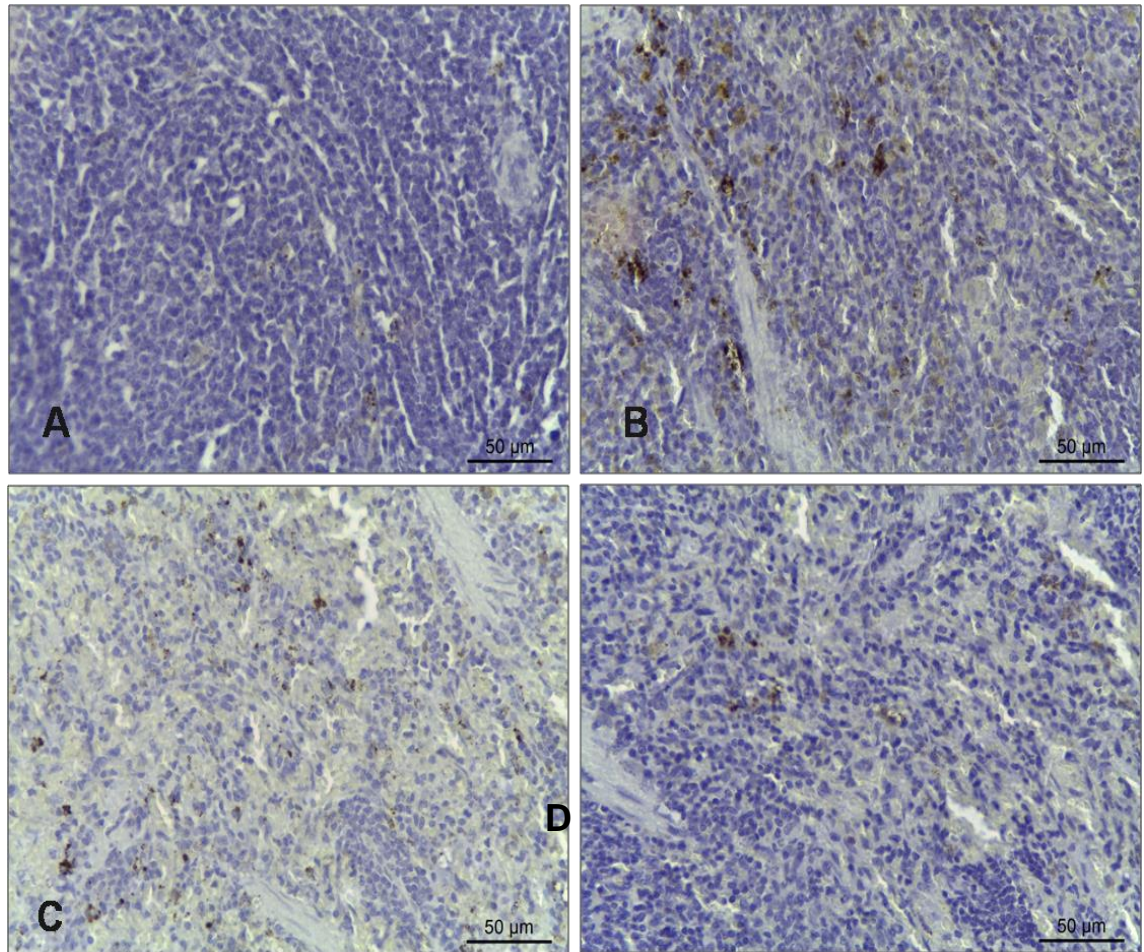


Figura 6: Quantificação de IL-6 no baço. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de ANOVA seguido pelo pos hoc de Tukey ($P < 0,05$).



4015

4016

4017

4018

4019

4020

4021

4022

4023

4024

4025

4026

4027

4028

4029

4030

4031

Figura 7: Fotomicrografia do baço das fêmeas dos grupos experimentais. Imunohistoquímica para TNF - α . A: Dieta Comum, B: Dieta Hipercalórica, C: Dieta Comum + Melatonina e D: Dieta Comum + Melatonina.

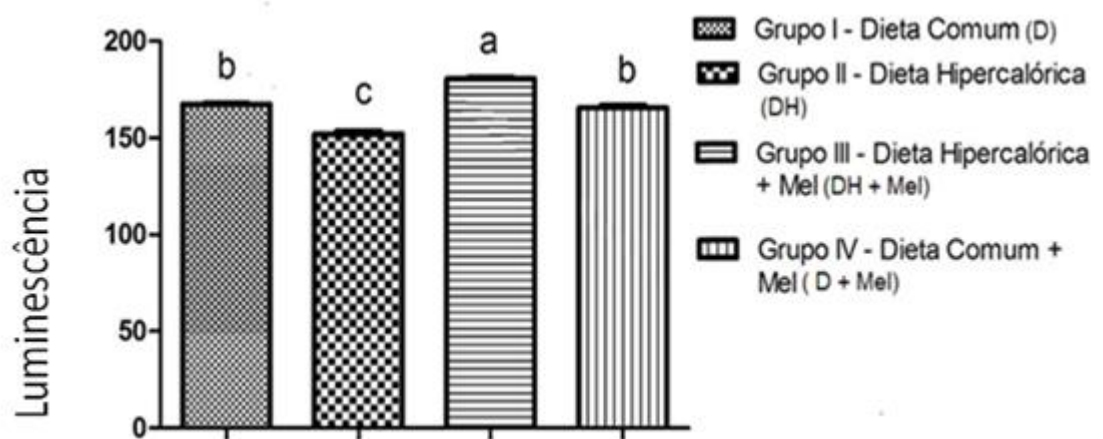
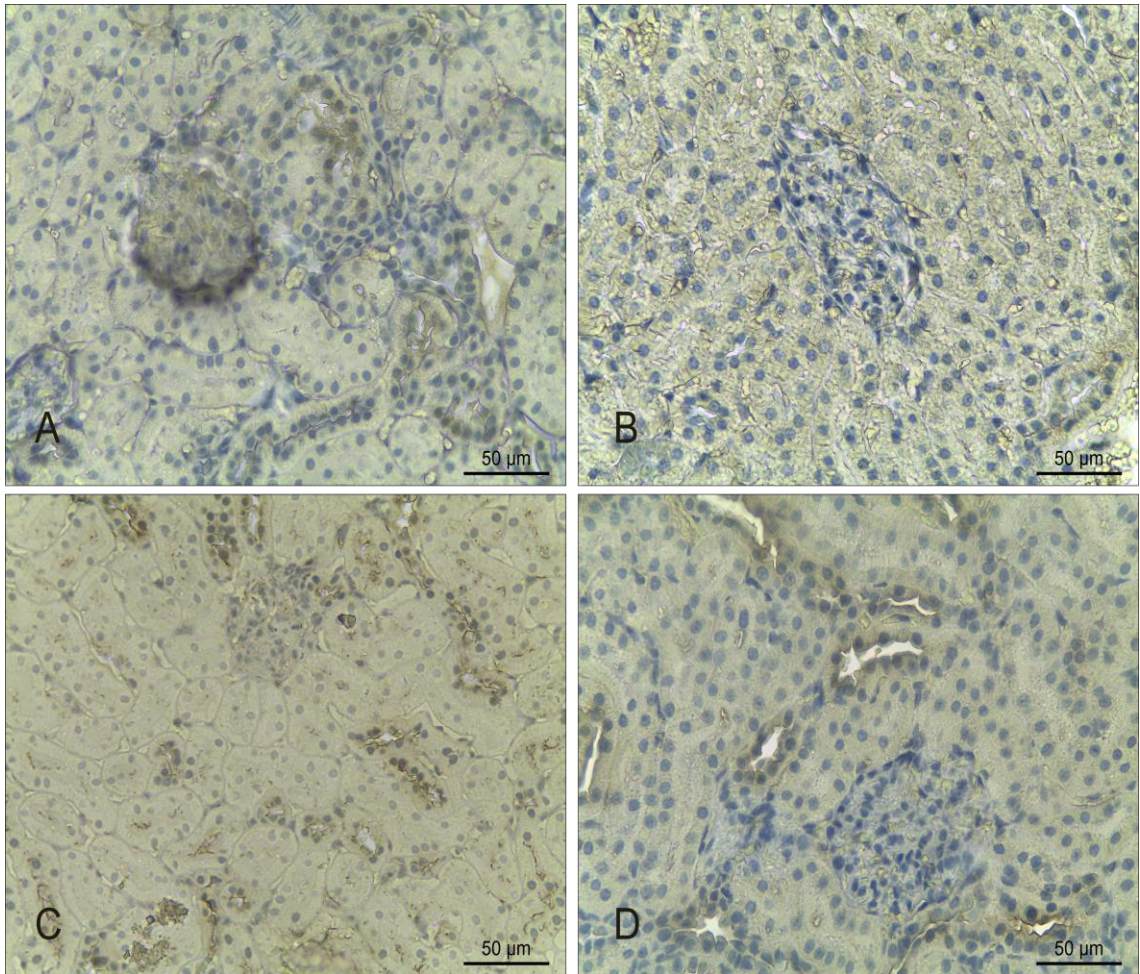


Figura 8: Quantificação de TNF - α no baço. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de ANOVA seguido pelo pos hoc de Tukey ($P < 0,05$).



4032

4033

4034

4035

4036

4037

4038

4039

4040

4041

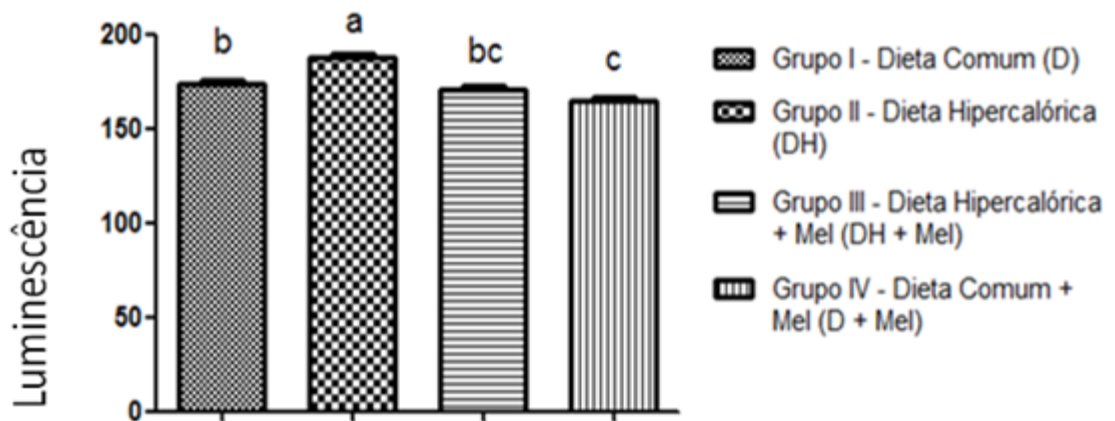
4042

4043

4044

4045

Figura 9: Fotomicrografia da região cortical dos rins das fêmeas dos grupos experimentais. Imunohistoquímica para VEGF. A: Dieta Comum, B: Dieta Hipercalórica, C: Dieta Comum + Melatonina e D: Dieta Comum + Melatonina.

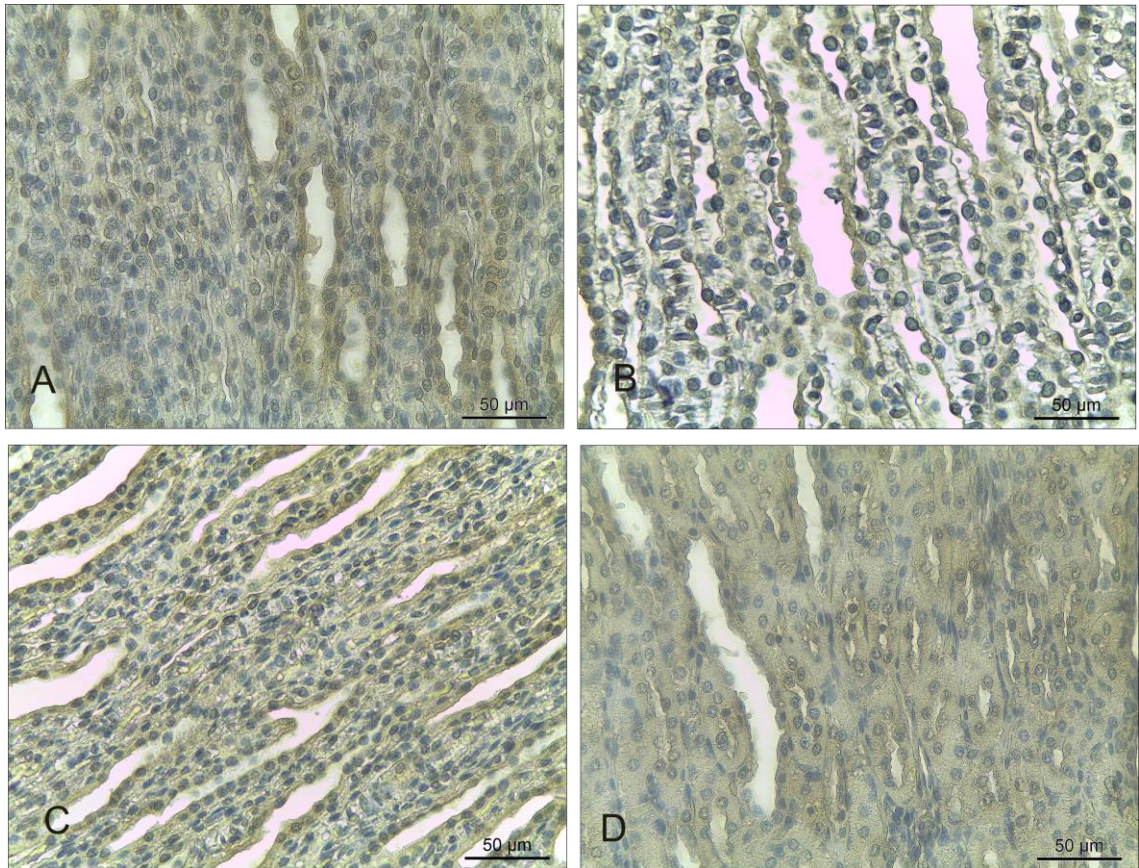


4046

4047

4048

Figura 10: Quantificação de VEGF na região cortical dos rins. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de ANOVA seguido pelo pos hoc de Tukey ($P < 0,05$).



4049

4050

4051

4052

4053

Figura 11: Fotomicrografia da região medular dos rins das fêmeas dos grupos experimentais. Imunohistoquímica para VEGF. A: Dieta Comum, B: Dieta Hipercalórica, C: Dieta Comum + Melatonina e D: Dieta Comum + Melatonina.

4054

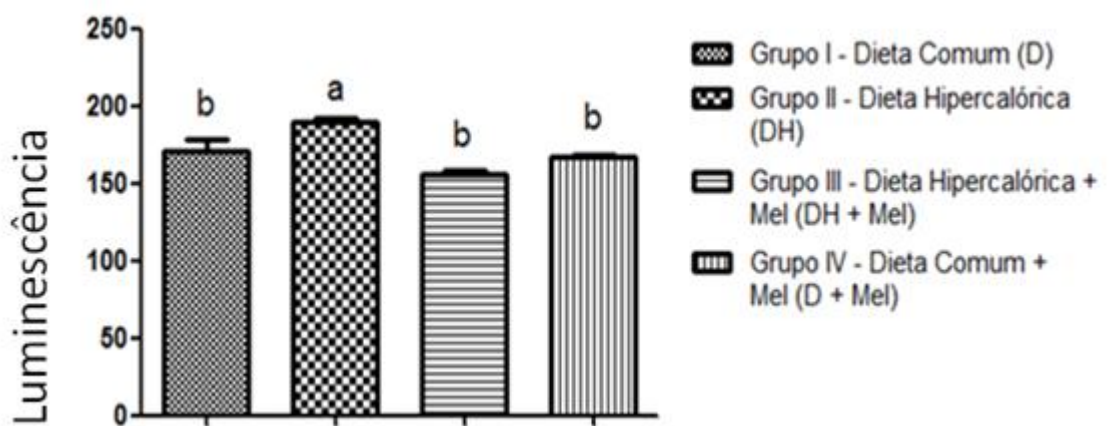
4055

4056

4057

4058

4059



4060

4061

4062

4063

4064

Figura 12: Quantificação de VEGF na região medular dos rins. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de ANOVA seguido pelo pos hoc de Tukey ($P < 0,05$).

4065 **Tabela 3.** Médias da urinálise das fêmeas dos grupos experimentais ao 7° dia de prenhez.

Grupos	Dieta comum	Dieta Hipercalórica	Dieta Hipercalórica + melatonina	Dieta Comum + melatonina	P
Densidade	1,00 ± 0,04a	1,00 ± 0,04a	1,00 ± 0,04a	1,00 ± 0,04a	0,1111
Potencial hidrogeniônico (pH)	8,8 ± 1,00a	8,5 ± 0,18a	8,8 ± 0,76a	8,4 ± 0,91a	0,0602
Leucócitos (leu/μl)	8,80 ± 1,43b	42,00 ± 1,88a	8,50 ± 1,09b	8,40 ± 1,22b	0,0101
Hemoglobina (g/dL)	--	--	--	--	--
Nitritos (mg/dL)	0,40 ± 0,11b	1,20 ± 0,15a	0,20 ± 0,13b	0,00 ± 0,00c	0,0008
Corpos cetônicos (mg/dL)	--	--	--	--	--
Bilirrubina (mg/dL)	0,40 ± 0,10b	1,00 ± 0,16a	0,00 ± 0,00c	0,00 ± 0,00c	0,0016
Urobilinogênio (mg/dL)	0,20 ± 0,09a	0,20 ± 0,09a	0,20 ± 0,09a	0,20 ± 0,09a	0,1313
Proteínas (mg/dL)	18,00 ± 3,21b	44,00 ± 4,59a	24,00 ± 4,09b	24,00 ± 3,88b	0,0105
Glicose (mg/dL)	10,00 ± 1,15a	10,00 ± 1,15a	0,00 ± 0,00b	0,00 ± 0,00b	0,0026

4066 Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney (P<0,05). (--) não detectado.

4068

4069 **Tabela 4.** Médias da urinálise das fêmeas dos grupos experimentais ao 14° dia de prenhez.

Grupos	Dieta comum	Dieta Hipercalórica	Dieta Hipercalórica + melatonina	Dieta Comum + melatonina	P
Densidade	1,00 ± 0,04a	1,00 ± 0,04a	1,00 ± 0,04a	1,00 ± 0,04a	0,1111
Potencial hidrogeniônico (pH)	8,2 ± 1,56a	8,2 ± 2,08a	7,9 ± 1,49a	8,4 ± 1,11a	0,0786
Leucócitos (leu/μl)	6,00 ± 2,66b	31,00 ± 4,75a	9,00 ± 2,80b	0,00 ± 0,00c	0,0009
Hemoglobina (g/dL)	--	--	--	--	--
Nitritos (mg/dL)	0,00 ± 0,00c	5,00 ± 1,61a	0,20 ± 0,19b	0,00 ± 0,00c	0,0228
Corpos cetônicos (mg/dL)	0,00 ± 0,00c	1,00 ± 0,09b	2,00 ± 0,44a	0,00 ± 0,00c	0,0315
Bilirrubina (mg/dL)	--	--	--	--	--
Urobilinogênio (mg/dL)	0,20 ± 0,09a	0,20 ± 0,09a	0,20 ± 0,09a	0,20 ± 0,09a	0,1313
Proteínas (mg/dL)	21,00 ± 2,46b	27,00 ± 1,61a	21,00 ± 2,80b	24,00 ± 1,93b	0,0211
Glicose (mg/dL)	10,00 ± 3,04b	20,00 ± 5,77a	0,00 ± 0,00c	0,00 ± 0,00c	0,0119

4070 Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney (P<0,05). (--) não detectado.

4072

4073 **Tabela 5.** Médias da urinálise das fêmeas dos grupos experimentais ao 20° dia de prenhez.

Grupos	Dieta comum	Dieta Hipercalórica	Dieta Hipercalórica + melatonina	Dieta Comum + melatonina	P
Densidade	1,00 ± 0,04a	1,00 ± 0,04a	1,00 ± 0,04a	1,00 ± 0,04a	0,1111
Potencial hidrogeniônico (pH)	8,6 ± 1,77a	8,1 ± 0,18a	8,3 ± 1,44a	8,4 ± 1,01a	0,0655
Leucócitos (leu/μl)	6,00 ± 1,49c	34,00 ± 3,12a	15,00 ± 1,38b	6,00 ± 1,60c	0,0276
Hemoglobina (g/dL)	--	--	--	--	--
Nitritos (mg/dL)	1,00 ± 0,01b	2,00 ± 0,04a	1,00 ± 0,03b	0,00 ± 0,00c	0,0023
Corpos cetônicos (mg/dL)	1,00 ± 0,14c	2,00 ± 0,09b	4,00 ± 0,86a	4,00 ± 0,34a	0,0108
Bilirrubina (mg/dL)	--	--	--	--	--
Urobilinogênio (mg/dL)	0,20 ± 0,01a	0,56 ± 0,15a	0,56 ± 0,12a	0,20 ± 0,02a	0,0077
Proteínas (mg/dL)	18,00 ± 3,57b	30,00 ± 3,73a	18,00 ± 2,98b	24,00 ± 4,12b	0,0191
Glicose (mg/dL)	10,00 ± 3,04b	20,00 ± 5,77a	0,00 ± 0,00c	0,00 ± 0,00c	0,0119

4074 Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney (P<0,05). (--) não detectado.

4076

4077 **Tabela 6.** Valores médios de leucócitos, eritrócitos, hemoglobina (HGB), hematócrito (HCT), volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (CHCM), plaquetas (PLT) e proteínas plasmáticas totais (PPT) das fêmeas dos grupos experimentais ao 7° dia de prenhez.

Grupos	Dieta comum	Dieta Hipercalórica	Dieta Hipercalórica + melatonina	Dieta Comum + melatonina	P
Leucometria (10 ³ /μL)	11,62 ± 2,04a	12,06 ± 4,23a	13,64 ± 1,96a	7,68 ± 1,32b	0,0012
Hematimetria (10 ⁶ /μL)	7,98 ± 1,14a	6,88 ± 1,59a	7,23 ± 1,33a	7,24 ± 1,67a	0,0830
HGB (g/dL)	16,48 ± 2,44a	14,98 ± 1,09a	15,00 ± 2,53a	16,14 ± 1,77a	0,1421
HCT (%)	46,40 ± 2,12a	41,00 ± 2,17a	49,20 ± 4,10a	46,00 ± 3,09a	0,3342
VCM (fL)	0,63 ± 0,08a	0,67 ± 0,03a	0,57 ± 0,13a	0,68 ± 0,23a	0,0538
CHCM (%)	3.291,12 ± 42,26a	3.253,80 ± 38,29a	3.315,67 ± 35,18a	3300,76 ± 40,21a	0,0802
PLT (10³/mm³)	594,62 ± 25,44b	730,39 ± 28,16a	608,40 ± 24,65b	588,13 ± 30,23b	0,0181
PPT (g/dL)	7,02 ± 1,55a	6,68 ± 2,76a	6,56 ± 3,43a	7,16 ± 1,90a	0,1001

4080 Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney (P<0,05).

4082

4083 **Tabela 7.** Valores médios de leucócitos, eritrócitos, hemoglobina (HGB), hematócrito (HCT),
 4084 volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (CHCM), plaquetas (PLT) e
 4085 proteínas plasmáticas totais (PPT) das fêmeas dos grupos experimentais ao 14° dia de prenhez.

Grupos	Dieta comum	Dieta Hipercalórica	Dieta Hipercalórica + melatonina	Dieta Comum + melatonina	P
Leucometria (10 ³ /μL)	13,76 ± 1,65a	12,72 ± 1,89a	12,62 ± 1,16a	10,00 ± 0,87b	0,0105
Hematimetria (10 ⁶ /μL)	7,32 ± 1,49a	7,00 ± 1,12a	6,45 ± 1,94a	6,42 ± 1,44a	0,0311
HGB (g/dL)	15,32 ± 2,66a	15,66 ± 2,76a	13,68 ± 3,05a	14,66 ± 2,99a	0,0765
HCT (%)	43,00 ± 2,05a	42,10 ± 2,07a	38,40 ± 3,13a	43,20 ± 1,14a	0,0635
VCM (fL)	0,59 ± 0,18a	0,60 ± 0,13a	0,59 ± 0,15a	0,67 ± 0,21a	0,1109
CHCM (%)	3.561,54 ± 50,09b	3.716,60 ± 45,34a	3565,26 ± 52,11b	3.388,84 ± 40,21c	0,0009
PLT (10³/mm³)	600,88 ± 33,01b	1.090,20 ± 29,76a	618,80 ± 30,49b	598,75 ± 35,82b	0,0022
PPT (g/dL)	6,80 ± 2,33a	6,54 ± 1,85a	6,50 ± 2,12a	6,68 ± 3,70a	0,1404

4086 Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Wilcoxon-Mann-
 4087 Whitney (P<0,05).

4088

4089 **Tabela 8.** Valores médios de leucócitos, eritrócitos, hemoglobina (HGB), hematócrito (HCT), volume
 4090 corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (CHCM), plaquetas (PLT) e proteínas
 4091 plasmáticas totais (PPT) das fêmeas dos grupos experimentais ao 20° dia de prenhez.

Grupos	Dieta comum	Dieta Hipercalórica	Dieta Hipercalórica + melatonina	Dieta Comum + melatonina	P
Leucometria (10 ³ /μL)	16,28 ± 3,26a	17,42 ± 2,19a	11,32 ± 2,37a	7,52 ± 1,11b	0,0004
Hematimetria (10 ⁶ /μL)	6,42 ± 1,77a	5,89 ± 1,05a	5,10 ± 1,88a	5,33 ± 1,93a	0,1254
HGB (g/dL)	12,14 ± 1,17a	13,90 ± 1,64a	10,86 ± 5,70a	11,62 ± 2,12a	0,2003
HCT (%)	39,60 ± 1,16a	37,20 ± 1,43a	33,40 ± 4,28a	33,80 ± 1,72a	0,0990
VCM (fL)	0,62 ± 0,11a	0,64 ± 0,19a	0,66 ± 0,20a	0,63 ± 0,18a	0,0772
CHCM (%)	3.257,73 ± 44,39b	3.765,10 ± 39,43a	3252,55 ± 51,66b	3.140,79 ± 42,98c	0,0222
PLT (10³/mm³)	607,36 ± 39,94b	1.087,40 ± 42,67a	629,00 ± 38,75b	585,20 ± 41,84b	0,0001
PPT	6,64 ± 1,66a	5,88 ± 2,73a	5,96 ± 2,96a	5,32 ± 3,51a	0,0812

4092 Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Wilcoxon-Mann-
 4093 Whitney (P<0,05).

4094

4095 **Tabela 9.** Médias da contagem diferencial dos leucócitos das fêmeas ao 7º dia de prenhez.

Grupos	Dieta comum	Dieta Hipercalórica	Dieta Hipercalórica + melatonina	Dieta Comum + melatonina	P
Neutrófilos (%)	71,80 ± 1,98a	77,60 ± 3,51a	75,00 ± 4,11a	66,00 ± 5,78b	0,0307
Linfócitos (%)	25,20 ± 2,18a	27,60 ± 2,66a	21,80 ± 2,48a	28,60 ± 3,40a	0,0911
Eosinófilos (%)	1,80 ± 0,22a	2,80 ± 0,43a	0,60 ± 0,36a	2,40 ± 0,50a	0,2003
Monócitos (%)	1,40 ± 0,52a	1,00 ± 0,48a	2,00 ± 0,65a	2,00 ± 0,12a	0,1010
Basófilos (%)	--	--	--	--	--

4096 Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney (P<0,05). (--) Indica células não encontradas.

4098

4099 **Tabela 10.** Médias da contagem diferencial dos leucócitos das fêmeas ao 14º dia de prenhez.

Grupos	Dieta comum	Dieta Hipercalórica	Dieta Hipercalórica + melatonina	Dieta Comum + melatonina	P
Neutrófilos (%)	68,20 ± 2,87a	66,00 ± 2,53a	70,25 ± 2,37a	61,20 ± 2,97b	0,0110
Linfócitos (%)	26,80 ± 2,77b	31,00 ± 1,05a	20,00 ± 4,88b	21,60 ± 3,37b	0,1052
Eosinófilos (%)	1,00 ± 0,01a	1,00 ± 0,01a	1,00 ± 0,01a	1,00 ± 0,01a	0,3001
Monócitos (%)	2,00 ± 0,16a	1,00 ± 0,13a	2,00 ± 0,23a	1,00 ± 0,02a	0,0650
Basófilos (%)	--	--	--	--	--

4100 Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney (P<0,05). (--) Indica células não encontradas.

4102

4103 **Tabela 11.** Médias da contagem diferencial dos leucócitos das fêmeas ao 20º dia de prenhez.

Grupos	Dieta comum	Dieta Hipercalórica	Dieta Hipercalórica + melatonina	Dieta Comum + melatonina	P
Neutrófilos (%)	68,80 ± 4,08a	67,40 ± 2,64a	71,40 ± 5,23a	61,60 ± 2,08b	0,0411
Linfócitos (%)	27,80 ± 3,14a	35,80 ± 1,22a	26,40 ± 1,39a	25,40 ± 2,31a	0,0053
Eosinófilos (%)	1,00 ± 0,01a	1,00 ± 0,01a	1,00 ± 0,01a	1,00 ± 0,01a	0,3001
Monócitos (%)	2,00 ± 0,18a	2,00 ± 0,11a	1,40 ± 0,07a	1,60 ± 0,14a	0,1400
Basófilos (%)	--	--	--	--	--

4104 Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney (P<0,05). (--) Indica células não encontradas.

4106

4107 **Tabela 12.** Bioquímica das fêmeas ao 7° dia de prenhez.

Grupos	Dieta comum	Dieta Hipercalórica	Dieta Hipercalórica + melatonina	Dieta Comum + melatonina	P
Ureia (mg/dL)	33,87 ± 9,78a	34,08 ± 9,54a	32,86 ± 3,87a	40,76 ± 7,29a	0,2608
Albumina (mg/dL)	3,39 ± 0,31a	3,20 ± 0,04a	3,17 ± 0,37a	3,11 ± 0,39a	0,1628
Creatinina (mg/dL)	0,47 ± 0,18a	0,65 ± 0,12a	0,61 ± 0,09a	0,68 ± 0,09a	0,1462
Proteínas Totais (mg/dL)	8,77 ± 0,57a	8,29 ± 0,21a	8,11 ± 0,63a	7,89 ± 0,86a	0,2125

4108 Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste de Wilcoxon-Mann-

4109 Whitney test (P<0,05).

4110

4111 **Tabela 13.** Bioquímica das fêmeas ao 14° dia de prenhez.

Grupos	Dieta comum	Dieta Hipercalórica	Dieta Hipercalórica + melatonina	Dieta Comum + melatonina	P
Ureia (mg/dL)	30,67 ± 6,91a	52,50 ± 8,15b	29,43 ± 2,17a	29,82 ± 3,94a	0,0145
Albumina (mg/dL)	2,94 ± 0,30a	3,28 ± 0,21a	3,09 ± 0,30a	2,94 ± 0,40a	0,2920
Creatinina (mg/dL)	0,49 ± 0,14a	0,73 ± 0,08b	0,52 ± 0,08a	0,68 ± 0,09a	0,0183
Proteínas Totais (mg/dL)	8,06 ± 0,67a	8,60 ± 0,72a	8,71 ± 0,29a	8,17 ± 1,27a	0,3279

4112 Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste de Wilcoxon-Mann-

4113 Whitney test (P<0,05).

4114

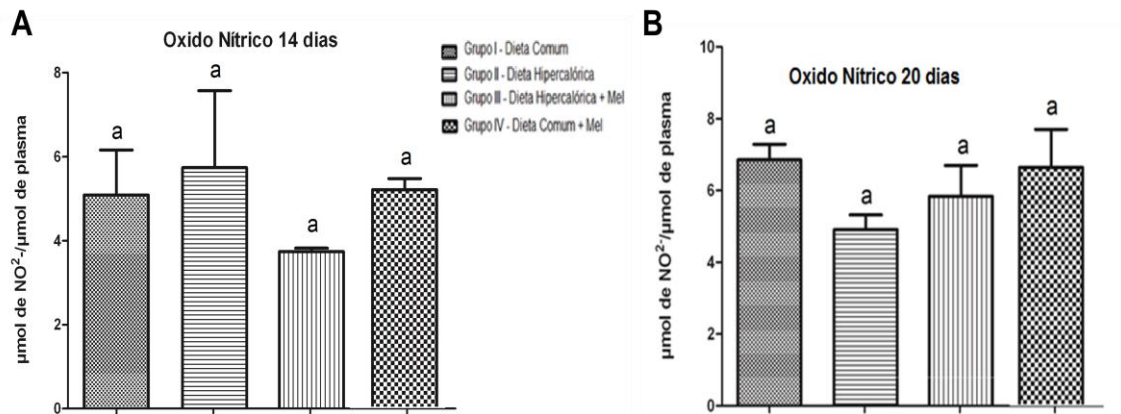
4115 **Tabela 14.** Bioquímica das fêmeas ao 20° dia de prenhez.

Grupos	Dieta comum	Dieta Hipercalórica	Dieta Hipercalórica + melatonina	Dieta Comum + melatonina	P
Ureia (mg/dL)	32,13 ± 4,21a	59,30 ± 5,54b	32,20 ± 1,82a	35,26 ± 2,32a	0,0446
Albumina (mg/dL)	2,48 ± 0,19a	2,90 ± 0,42a	2,57 ± 0,26a	2,53 ± 0,51a	0,2892
Creatinina (mg/dL)	0,53 ± 0,06a	0,94 ± 0,03b	0,54 ± 0,10a	0,47 ± 0,11a	0,0190
Proteínas Totais (mg/dL)	7,41 ± 0,22a	8,28 ± 0,85a	7,06 ± 0,43a	7,34 ± 0,33a	0,0524

4116 Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si de acordo com o teste de Wilcoxon-Mann-

4117 Whitney test (P<0,05).

4118



4119

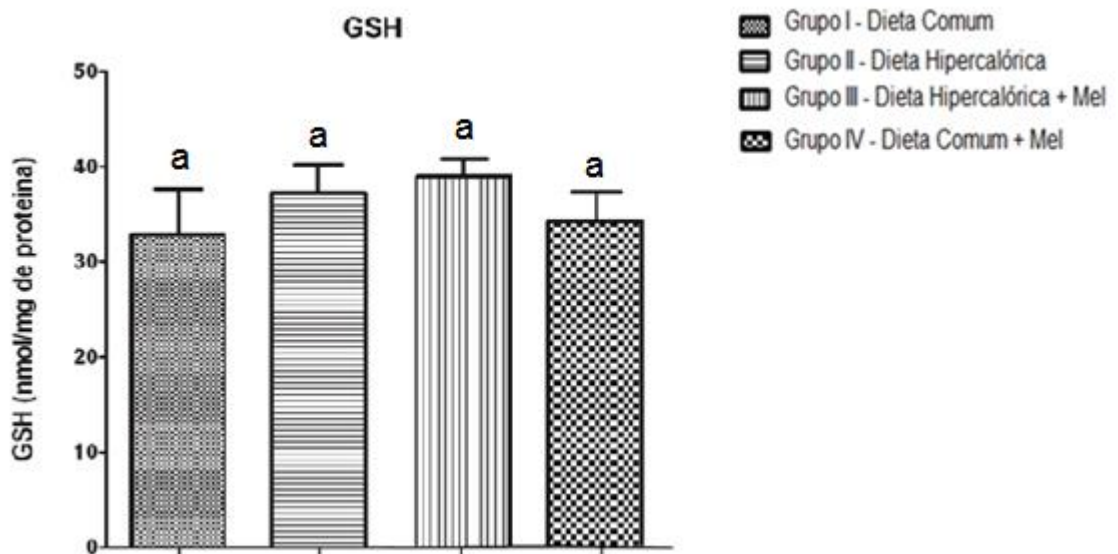
4120 **Figura 13.** Quantificação de estresse oxidativo nas fêmeas dos grupos experimentais. A: 14°
 4121 dia de prenhez; B: 20° dia de prenhez. Médias seguidas pela mesma letra não diferem
 4122 significativamente entre si pelo teste de ANOVA seguido pelo pos hoc de Tukey ($P < 0,05$).

4123

Estresse Oxidativo Renal

4124

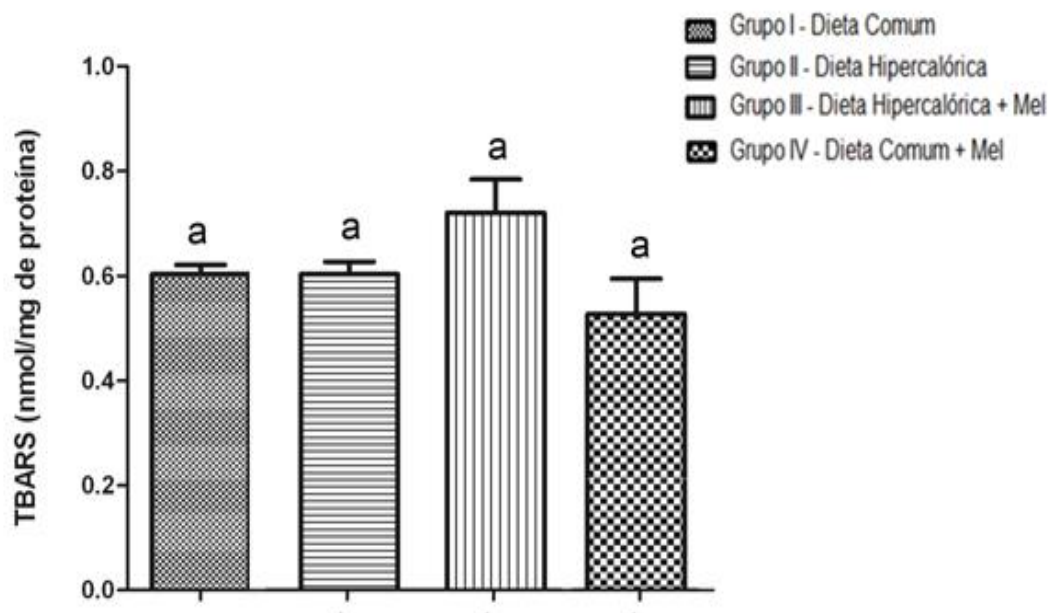
4125



4126

4127 **Figura 14.** Quantificação de GSH nos rins das fêmeas dos grupos experimentais. Médias
 4128 seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de ANOVA
 4129 seguido pelo pos hoc de Tukey ($P < 0,05$).

4130



4131

4132 **Figura 15.** Quantificação de TBARS nos rins das fêmeas dos grupos experimentais. Médias
 4133 seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de ANOVA
 4134 seguido pelo pos hoc de Tukey ($P < 0,05$).