

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**

**DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA**

**CURSO DE LICENCIATURA PLENA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**



**EFEITOS DE DIETA HIPERCALÓRICA ASSOCIADA OU NÃO A MELATONINA  
EXÓGENA DURANTE A GESTAÇÃO E LACTAÇÃO SOBRE HISTOFISIOLOGIA  
DO BAÇO NA PROLE**

**PALOMA KAREN BANDEIRA DE MELO ALPIOVEZZA**

RECIFE

2019

PALOMA KAREN BANDEIRA DE MELO ALPIOVEZZA

**EFEITOS DE DIETA HIPERCALÓRICA ASSOCIADA OU NÃO A MELATONINA  
EXÓGENA DURANTE A GESTAÇÃO E LACTAÇÃO SOBRE HISTOFISIOLOGIA  
DO BAÇO NA PROLE**

Monografia apresentada ao Curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas/UFRPE como requisito parcial para obtenção do grau de Licenciada em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Valéria Wanderley Teixeira.

Coorientador: MSc. Clovis José Cavalcanti Lapa Neto.

RECIFE

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Sistema Integrado de Bibliotecas  
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- A457e Alpiovezza, Paloma Karen Bandeira de Melo  
Efeitos de dieta hipercalórica associada ou não a melatonina exógena durante a gestação e lactação sobre histofisiologia do baço na prole / Paloma Karen Bandeira de Melo Alpiovezza. - 2019.  
51 f. : il.
- Orientadora: Valeria Wanderley .  
Coorientador: Clovis Jose Cavalcanti Lapa Neto.  
Inclui referências.
- Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, , Recife, 2021.
1. rata. 2. dieta. 3. histomorfometria. 4. imunohistoquímica. 5. antioxidantes. I. , Valeria Wanderley, orient. II. Neto, Clovis Jose Cavalcanti Lapa, coorient. III. Título

PALOMA KAREN BANDEIRA DE MELO ALPIOVEZZA

**EFEITOS DE DIETA HIPERCALÓRICA ASSOCIADA OU NÃO A MELATONINA  
EXÓGENA DURANTE A GESTAÇÃO E LACTAÇÃO SOBRE HISTOFISIOLOGIA  
DO BAÇO NA PROLE**

Comissão Avaliadora:

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Valéria Wanderley Teixeira – DMFA – UFRPE  
Orientadora

---

Prof<sup>o</sup> Dr<sup>o</sup> Álvaro Aguiar Coelho Teixeira – DMFA – UFRPE  
Membro Titular

---

Dr<sup>a</sup> Ismaela Maria Ferreira de Melo – DMFA – UFRPE  
Membro Titular

---

Msc. Érique Ricardo Alves – DMFA – UFRPE  
Suplente

RECIFE

2019

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  
27  
28  
29  
30  
31

Dedico ao meu admirado e amado pai, Sebastião Cavalcanti Bandeira de Melo,  
pois, não importa quantas vezes eu o tenha um dia agradecido, nunca foi o  
suficiente para retribuir tudo o que o senhor fez por mim.

## AGRADECIMENTOS

33           Agradeço ao senhor, meu pai, Sebastião Bandeira, em principal por ter  
34 me escolhido para ser sua filha, e, por incessantemente ter feito tudo por mim e  
35 pela minha felicidade. Obrigada por constantemente ter me incentivado a estudar  
36 e aprender, batalhar e ser uma pessoa melhor, e ser meu maior exemplo. E sei  
37 que sem você, hoje eu não estaria aqui, sempre serei grata por tudo o que o  
38 senhor fez por mim desde o dia em que nasci. Você é, e sempre será meu herói,  
39 minha inspiração de vida!

40           Agradeço a minha orientadora, Valéria Wanderley Teixeira,  
41 primeiramente, pela oportunidade e a confiança que foi depositada em mim.  
42 Assim, como, agradeço a todas as orientações, conselhos, ensinamentos. E ao  
43 Prof. Álvaro Teixeira, agradeço por todas as orientações, conselhos e auxílios,  
44 assim, também, pela confiança. Vocês são uma inspiração para mim. À Clovis  
45 por ser solícito e sempre ter me ajudado em todas as etapas, sendo fundamental  
46 para a construção desse trabalho, constantemente do meu lado me auxiliando a  
47 solucionar qualquer adversidade. Agradeço a Ismaela e Érique, por terem me  
48 ajudado muito nos momentos em que precisei. E a todo pessoal do laboratório,  
49 por todo o conhecimento que foi passado para mim, apoio, solidariedade, ajuda,  
50 palavras de conforto, momentos de descontração, muito obrigada, Marina,  
51 Vanessa, Rebeka, Laís, Anthony, Ana, Cintia, Carol. Vocês todos são uma parte  
52 primordial desse trabalho, pois, jamais teria conseguido realizá-lo sem vocês,  
53 serei eternamente grata por ter tido a possibilidade e o prazer de aprender com  
54 cada um de vocês. Agradeço ao pessoal do biotério, André e Renata. E a  
55 Solange que iniciou esse projeto de pesquisa, e ao professor Valdemiro Júnior  
56 pela disponibilidade e contribuições nas análises do trabalhado.

57           Agradeço a minha mãe, Solange, por ter abdicado de tanto por mim, por  
58 ter confiado e investido no meu futuro. Você é uma mãe maravilhosa, guerreira,  
59 e eu só tenho a reconhecer todo o esforço que você fez por mim desde sempre.  
60 Agradeço a minha amada mãe, Andréa, que mesmo distante sempre fez o  
61 máximo para estar presente, e desde sempre, me pôs como prioridade em sua  
62 vida. Agradeço aos meus irmãos, Eduardo e Bruno, vocês são meus anjos e eu  
63 estimo tudo do melhor para vocês. E a todos meus familiares que me  
64 incentivaram e torceram por mim e pelo meu sucesso.

65           Agradeço a Larissa, que mesmo estando em outro continente, esteve  
66 sempre presente e continua sendo a melhor amiga que eu poderia ter. À  
67 Guilherme por ter sido tão companheiro e me dado todo o apoio durante toda  
68 essa trajetória. Sem você, tudo teria sido mais difícil, então, só tenho a agradecer  
69 por você ter estado ao meu lado todos os dias me reconfortando, me animando,  
70 muito obrigada. Agradeço a todos meus amigos por estarem comigo em todos  
71 os momentos da minha vida, Beatriz, Virginia, Carol, Adriana, Pedrinho, Danilo,  
72 Paulo, Millena, Felipe. Não sei se teria conseguido chegar a lugar algum sem o  
73 apoio de vocês.

74           Agradeço aos amigos que adquiri durante a graduação mas irei levar para  
75 toda a vida, Guilherme, Isabela, Kathyanne e William, vocês foram muito  
76 importantes para minha formação, me deram força, me incentivaram, fizeram  
77 essa trajetória se tornar mais leve, agradável, feliz e divertida. Sempre irei me  
78 recordar de todos os momentos que passamos durante esses quatro anos, cada  
79 risada, brincadeira, discussão, tudo isso faz parte da minha história, obrigada.  
80 Aos meus colegas de turma, que tornaram essa jornada mais animada, com  
81 momentos icônicos que jamais esquecerei, guardarei vocês pra sempre na  
82 minha memória.

83           Agradeço a todos os professores que tive em minha vida, vocês foram  
84 fundamentais para estimular uma jovem em busca de um futuro, essenciais para  
85 meu aprendizado e crescimento. Em especial, agradeço aos meus professores  
86 de graduação que foram capazes de me mostrar um mundo novo, muito colorido,  
87 cheio de conhecimento, obrigada por me encantarem com o saber, ensino e  
88 pesquisa. Obrigada, Ariadne Moura, Carmem Zickel, Catarina Fraga, Cristiane  
89 Araújo, Fernanda Amaral, Flávia Lins, Flavita Conceição, Geraldo Moura,  
90 Gustavo Ribeiro, José Vitor, Marliete Soares, Marília Cadena, Mariza Brandão,  
91 Nara Suzy, Neto Palhares, Paulo Eleotério, Pompéia Villachan-Lyra, Veridiana  
92 Alves, Raquel Pedrosa, Valéria Teixeira e Ygor Jacques. E aos técnicos e  
93 servidores, sempre dispostos a ajudar.

94           Agradeço a Universidade Federal Rural de Pernambuco, pelo acolhimento  
95 e por abrirem um mundo de possibilidades para mim, fico feliz em me sentir em  
96 casa aqui. Ainda mais com a presença de um restaurante universitário capaz de  
97 tornar qualquer estadia mais fácil. Agradeço, também, ao CNPQ pela concessão  
98 da bolsa que possibilitou a realização desse trabalho, além de me permitir  
99 adquirir experiências fundamentais para meu crescimento na graduação.

100           Por fim, agradeço aos meus cachorros, Fly, Sky e Shoyo, por serem os  
101 melhores companheiros diários que eu poderia ter, me ajudando sempre a liberar  
102 mais dopamina e serotonina. Vocês tornaram tudo mais fácil.

103

104

105

## SUMÁRIO

106

107	<b>1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	13
108	1.1. Dietas Hipercalóricas e Obesidade .....	13
109	1.2. Programação Fetal e Dieta Hipercalórica .....	15
110	1.3. Histofisiologia do Baço .....	17
111	1.4. Dieta Hipercalórica e o Baço associados ao Sistema Imune .....	19
112	1.5. Melatonina .....	21
113	1.6. Melatonina e Dieta Hipercalórica .....	22
114	<b>2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	24
115	EFEITOS DE DIETA HIPERCALÓRICA ASSOCIADA OU NÃO A	
116	MELATONINA EXÓGENA DURANTE A GESTAÇÃO E LACTAÇÃO SOBRE	
117	HISTOFISIOLOGIA DO BAÇO NA PROLE .....	30
118	RESUMO .....	31
119	<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	33
120	<b>2. OBJETIVOS</b> .....	34
121	2.1. Geral .....	34
122	2.2. Específicos .....	35
123	<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	35
124	3.1. Obtenção dos Animais .....	35
125	3.2. Diagnóstico de Prenhez .....	36
126	3.3. Tratamento com Melatonina .....	36
127	3.4. Histopatologia, Histoquímica e Morfometria do Baço .....	36
128	3.5. Imunohistoquímica .....	37
129	3.6. Análise Estatística .....	37
130	<b>4. RESULTADOS</b> .....	38
131	4.1. Análise Histopatológica do Baço .....	38
132	4.2. Análise Morfométrica do Baço .....	40
133	4.3. Análise Histoquímica do Baço .....	41
134	4.4. Análise Imunohistoquímica do Baço .....	43
135	<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	45
136	<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	47
137	<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	47

138



139

140

## RESUMO

141

142 O aumento no consumo de dietas ricas em gorduras e açúcares se encontra  
143 associado a prevalência de várias doenças, inclusive reprodutivas. Assim,  
144 observa-se em estudos recentes que esse mesmo acréscimo se apresenta  
145 associada a problemas no baço e as disfunções imunológicas. Dessa forma, é  
146 conhecido um aumento significativo na prevalência de obesidade em mulheres  
147 em faixa reprodutiva, e uma disfunção durante os períodos de gestação e  
148 lactação pode levar a uma maior susceptibilidade na prole em apresentar  
149 obesidade, resistência à insulina, e demais doenças, como estudos que indicam  
150 que a ingestão de uma dieta hipercalórica induz o desenvolvimento de  
151 esplenomegalia. Desse modo, a melatonina, é uma indolamina produzida pela  
152 pineal, que apresenta a capacidade de agir como um potente agente antioxidante  
153 e imunostimulatório. Assim, a presente pesquisa teve o objetivo de investigar  
154 os efeitos do consumo de uma dieta hipercalórica durante a gestação e lactação  
155 associada ou não à melatonina, sobre o baço da prole. Foram utilizadas 40 ratas  
156 albinas prenhes divididas em 4 grupos: I: ratas prenhes submetidas à dieta  
157 padrão durante toda a gestação (C); II: ratas prenhes submetidas à dieta padrão  
158 e tratadas com melatonina (5 mg/Kg) (C+Mel) durante toda a gestação e período  
159 de lactação; III: ratas prenhes submetidas à dieta hiperlipídica durante toda a  
160 gestação e período de lactação (DH) e IV: ratas prenhes submetidas à dieta  
161 hiperlipídica e tratadas com melatonina (5 mg/Kg) (DH+Mel). A melatonina foi  
162 administrada no início da noite. Foi realizada a coleta do baço e os cortes  
163 submetidos à técnica de coloração para análise histopatológica, histoquímica,  
164 morfométrica e imunohistoquímica. A análise da histopatologia e morfometria  
165 revelaram uma grande marcação do sistema imunológico nos filhotes dos grupos  
166 experimentais tratados com melatonina em relação aos demais. Enquanto na  
167 histoquímica foi observado um aumento nas fibras reticulares no grupo DH e  
168 uma estabilização em DH+Mel, e na imunohistoquímica se observou uma alta  
169 expressão da citocina IL-1 no grupo DH e redução nos grupos tratados com  
170 melatonina. Assim, concluímos que a melatonina apresenta um grande potencial  
171 em impulsionar a atividade imune, reduzir o percentual de citocinas pró-  
172 inflamatórias e prevenir a proliferação de fibras reticulares no baço.

173

174 **Palavras-chave:** rata; histomorfometria; disfunção imunológica; dieta,  
175 imunohistoquímica; antioxidantes; neonatos.

176

177

178

179

## LISTA DE TABELAS

180

181 **TABELA 1** - Média  $\pm$  desvio padrão da área (AR), perímetro (PER), diâmetro  
182 máximo (DMX) e diâmetro mínimo (DMN) dos corpúsculos esplênicos do baço  
183 dos filhotes com 21 dias. ....40

184 **TABELA 2** - Média  $\pm$  desvio padrão da área (AR), perímetro (PER), diâmetro  
185 máximo (DMX) e diâmetro mínimo (DMN) dos centros germinativos do baço dos  
186 filhotes com 21 dias. ....41

187

188

## LISTA DE FIGURAS

192 **FIGURA 1** - Fotomicrografia do baço dos grupos experimentais. A) C – Dieta  
 193 Padrão; B) C+Mel – Dieta Padrão + Melatonina; C) DH – Dieta Hipercalórica; D)  
 194 DH+Mel – Dieta Hipercalórica + Melatonina. Apresentando regiões de polpa  
 195 vermelha (seta), e regiões de polpa branca (asterisco). Nas regiões de destaque:  
 196 arterióla central (I, III, V, VII) e megacariócitos (II, IV, VI, VIII). Coloração  
 197 Hematoxilina-Eosina (HE). .....39

198 **FIGURA 2** - Fotomicrografia da histoquímica do baço dos grupos experimentais  
 199 para a quantificação de fibras reticulares. A) C – Dieta Padrão; B) C+Mel – Dieta  
 200 Padrão + Melatonina; C) DH – Dieta Hipercalórica; D) DH+Mel – Dieta  
 201 Hipercalórica + Melatonina. Coloração por Prata (Impregnação Argêntica). ....42

202 **FIGURA 3** - Fotomicrografia da imunohistoquímica para a IL-1 no baço dos  
 203 animais dos grupos experimentais. A-B) C – Dieta Padrão; C-D) C+Mel – Dieta  
 204 Padrão + Melatonina; E-F) DH – Dieta Hipercalórica; G-H) DH+Mel – Dieta  
 205 Hipercalórica + Melatonina. Notar marcação positiva apenas nos grupos C e DH  
 206 na polpa branca (setas) e polpa vermelha. ....44

207 **GRÁFICO 1** - Média dos valores obtidos a partir da quantificação em pixels das  
 208 fibras reticulares por Impregnação Argêntica no baço dos filhotes das ratas dos  
 209 grupos experimentais. Médias seguidas pela mesma letra não diferem  
 210 significativamente entre si pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ( $P < 0,05$ ). ....43

211 **GRÁFICO 2** - Quantificação em pixels do IL-1 no baço dos animais dos grupos  
 212 experimentais. Médias seguidas pela mesma letra não diferem  
 213 significativamente entre si pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ( $P < 0,05$ ). ....45

215

216

## LISTA DE ABREVIações

217

218 4-HNE – 4-hidroxinonenal

219 C – Dieta Padrão

220 C+MEL – Dieta Padrão associada a Melatonina

221 CDC - Centro de Controle e Prevenção de Doenças

222 CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais

223 DAB – 3,3'diaminobenzidina

224 DH – Dieta Hipercalórica

225 DH+MEL – Dieta Hipercalórica associada a Melatonina

226 DHGNA – Doença Hepática Gordurosa Não-alcoólica

227 DNA – Ácido Desoxirribonucleico

228 EROS – Espécies Reativas de Oxigênio

229 HE – Hematoxilina-Eosina

230 IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

231 IL-1 – Interleucina 1

232 IL-1 $\beta$  – Interleucina 1 beta

233 IL-6 – Interleucina 6

234 IL-10 – Interleucina 10

235 MT1 – Receptor de Melatonina 1

236 MT1A – Receptor de Melatonina 1A

237 MT1B – Receptor de Melatonina 1B

238 PNS – Pesquisa Nacional de Saúde

239 TNF- $\alpha$  – Fator Alfa de Necrose Tumoral

240 WHO – World Health Organization

## 241 1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

242

### 243 1.1. Dietas Hipercalóricas e Obesidade

244

245 Mudanças no padrão alimentar e nutricional ocorridas neste século em  
246 diversos países do mundo convergiram para a configuração de uma dieta mais  
247 rica em gorduras, principalmente de origem animal, açúcares e alimentos  
248 refinados, porém, com quantidade reduzida de fibras e outros carboidratos  
249 complexos (MONTEIRO et al., 1995; FRANCISCHI et al., 2000; WANDERLEY;  
250 FERREIRA, 2007). Assim, esses hábitos nutricionais estão sendo comumente  
251 associados com o aumento na prevalência de outras doenças crônico-  
252 degenerativas, tais como obesidade, diabetes mellitus, hipertensão arterial,  
253 dislipidemias, doenças cardiovasculares, artrites e alguns tipos de cânceres  
254 (WHO, 2018).

255 Segundo a World Health Organization (WHO) no ano de 2016, mais de 1,9  
256 bilhões dos adultos apresentavam sobrepeso, e destes, mais de 650 milhões  
257 eram obesos. De maneira que pesquisas mostram que os homens exibem uma  
258 maior taxa de sobrepeso, enquanto, mulheres um maior índice de obesidade.  
259 Ainda de acordo com WHO (2018), o diagnóstico de obesidade é realizado a  
260 partir da mensuração do índice de massa corporal (IMC), um simples indicador  
261 comumente usado para classificar obesidade em adultos, por meio da relação  
262 entre o peso corpóreo (kg) e estatura (m), sendo considerado obeso, os  
263 indivíduos que apresentarem IMC igual ou superior a 30kg/m. Esse método é  
264 usualmente utilizado para ambos os sexos, entretanto supõe-se que deva ser  
265 considerado um grau aproximado, pois o percentual de gordura se apresenta de  
266 forma diferente entre homens e mulheres.

267 Assim, é notável que a taxa de obesidade mundial quase triplicou desde  
268 1975 até 2016, de maneira que 39% da população acima dos 18 anos  
269 apresentava sobrepeso, e destes, 13% eram obesos. Observa-se, também, que  
270 as mulheres exibem uma predominância de 15% contra 11% em homens (WHO,  
271 2018). E no Brasil, de acordo a Pesquisa Nacional de Saúde (PNS) em 2013,

272 essa prevalência aumentou para o índice de 24,4% de mulheres obesas e 16,8%  
273 de homens (IBGE, 2019). E ainda, segundo Flegal et al. (2012) a prevalência de  
274 mulheres obesas em idade reprodutiva está aumentando, aproximando-se 35%  
275 naquelas entre 20-39 anos, assim, essa associação entre sobrepeso e  
276 obesidade passou a representar uma grande preocupação referente a saúde  
277 reprodutiva da mulher.

278 Desse modo, a obesidade tipifica um distúrbio metabólico, sendo  
279 considerada como a mais relevante desordem nutricional devido a sua irrestrita  
280 incidência, que vem abrangendo países desenvolvidos e em desenvolvimento, e  
281 ao seu alto número de casos relatados (FRUH, 2017; WHO, 2018). Ainda  
282 segundo a WHO (2018), atualmente a maior parte da população vive em países  
283 nos quais a obesidade e o sobrepeso matam mais que a desnutrição. Assim,  
284 configura-se como um problema de saúde pública de alta relevância no mundo  
285 moderno, ao abranger indivíduos de todas as raças e sexos, independente de  
286 classe social (BLUMENKRANTZ, 1997; FRANCISCHI et al., 2000).

287 Obesidade não é uma desordem singular, esta envolve uma gama de  
288 fatores heterogêneos de condições com inúmeras causas, como históricos  
289 socioeconômicos, psicossociais, biológicos e culturais, porém, sendo fortemente  
290 caracterizada por um fenótipo que apresenta acúmulo anormal ou excessivo de  
291 gordura corporal em um nível capaz de comprometer a saúde dos indivíduos  
292 (WANDERLEY; FERREIRA, 2007; WHO, 2018). Este transtorno alimentar é  
293 concernente com um balanço energético positivo insistente resultante de uma  
294 ingesta calórica excessiva, promovendo aumento na reserva energética e do  
295 peso corporal, associado a um estilo de vida sedentário. (PEREIRA et al., 2003).  
296 Deste modo, a alta associação de alimentos hipercalóricos e sedentarismo leva  
297 a previsões que a maioria da população mundial adulta nas próximas duas  
298 décadas irá se tornar suscetível à obesidade (KELLY et al., 2008; WANG et al.,  
299 2008; REITER et al., 2012). Sendo, também, associada com doenças  
300 causadoras de morbidades e mortalidade, como diabetes, doença arterial  
301 coronária, doenças na vesícula biliar, fígado e baço, além recentes estudos  
302 associarem obesidade a uma disfunção imunológica (MARCOVECCHIO et al.,  
303 2005; KORTT; CLARKE, 2005; QIN et al., 2005; HAMAGUCHI et al., 2005;  
304 ALTUNKAYNAK et al., 2007).

305 Assim, de acordo com estudos em camundongos alimentados com uma  
306 dieta hiperlipídica, a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) seria o  
307 evento inicial desencadeador do desenvolvimento de uma resistência à insulina,  
308 possibilitando indicar que os EROS seriam o ponto introdutório da síndrome  
309 metabólica ocasionado por esse tipo de dieta (GAO et al., 2016).

310 Dessa forma, o consumo excessivo de uma dieta hipercalórica leva a um  
311 acréscimo no acúmulo de triglicerídeos nos adipócitos (hipertrofia) e um aumento  
312 em seu número de células (hiperplasia) (TEIXEIRA, 2012). De modo geral, o  
313 tecido adiposo é essencial por executar múltiplas funções, como o fornecimento  
314 de recursos nutricionais, produção hormonal e até mesmo estrutural. Em que os  
315 adipócitos são células, que compõe esse tecido, especificamente adaptadas  
316 para armazenar gordura, e prevenir efeitos adversos ao metabolismo devido ao  
317 excesso do depósito de gordura em órgãos como músculo, fígado e coração  
318 (LEDDY et al., 2008). O tecido adiposo humano pode ser dividido em: tecido  
319 adiposo branco e tecido adiposo marrom, sendo este principalmente relacionado  
320 com a produção de calor, enquanto pesquisas recentes indicam que o branco  
321 atua como um importante órgão endócrino ativo. Uma vez, que apresenta a  
322 capacidade de expressar e/ou secretar adipocinas, associadas a processos  
323 metabólicos, imunes e neuroendócrinos (KERSHAW; FLIER, 2004; TILG et al.,  
324 2006; LEITE et al., 2009). Além disso, o tecido adiposo se apresenta um  
325 importante papel na produção de hormônios que influenciam tanto o  
326 metabolismo quanto a reprodução, sabendo-se então que, tanto a obesidade  
327 quanto a desnutrição levam a uma disfunção reprodutiva (GREGORASZCZUK  
328 et al., 2016).

329

## 330 1.2. Programação Fetal e Dieta Hipercalórica

331

332 Obesidade materna em humanos promove um acréscimo no risco de  
333 adversidades durante a gravidez, incluindo pré-eclâmpsia, diabetes gestacional  
334 e hipertensão gestacional. Podendo, além disso, oportunizar o surgimento de  
335 complicações que afetem o desenvolvimento fetal e a saúde da prole durante  
336 toda sua vida, uma vez que a saúde materna apresenta um significativo impacto



337 sobre o ambiente uterino (BOO et al., 2006; CATALANO et al., 2006; LEDDY et  
338 al., 2008). Desse modo, segundo dados do Sistema de Monitoramento e  
339 Avaliação de Risco na Gravidez – do Centro de Controle e Prevenção de  
340 Doenças (CDC) dos EUA, sabe-se que a prevalência da obesidade pré-gravidez  
341 aumentou 69% num período de 10 anos, de 13% em 1993-1994 para 22% em  
342 2002-2003.

343 O feto exibe uma grande capacidade de ajustar seu metabolismo aos  
344 estímulos recebidos durante sua vida intrauterina, sendo este fato  
345 correlacionado a hipótese de programação fetal (hipótese de Barker), porém  
346 esses mesmos ajustes no ambiente uterino podem se mostrarem desfavoráveis  
347 aos estímulos impostos pelo ambiente pós-natal (POSSIGNOLO, 2012). Existem  
348 evidências de que a programação no útero seria capaz de produzir lesões nas  
349 redes neurais que regulam o metabolismo de energia, dessa forma, fatores  
350 ambientais externos, como por exemplo, estresse e nutrição levariam a uma  
351 alteração nos neurônios hipotalâmicos da prole (BEZPALKO et al., 2015).

352 Assim, a dieta hipercalórica, que comumente ocasiona obesidade materna  
353 pode predispor o surgimento de doenças na prole, como por exemplo, doença  
354 cardíaca, hipertensão, doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA),  
355 diabetes não-insulino-dependente e a incapacidade para utilizar os ácidos  
356 graxos para energia (OBEN et al., 2010; BORENGASSER et al., 2011; 2014).  
357 Caracterizando-se, também, como um fator de risco significativo para defeitos  
358 no tubo neural em neonatos (CATALANO et al., 2006). E ainda de acordo com  
359 Gohir et al. (2019), a ingestão de dietas ricas em gordura durante a gestação foi  
360 capaz de interferir na microbiota intestinal e as adaptações intestinais maternas  
361 à gravidez, ao reduzir a função de barreira intestinal, de modo a possivelmente  
362 interferir na integridade da junção estanque.

363 Desta forma, existem estudos com ratos que demonstram como o estado  
364 nutricional e o ambiente uterino se relacionam em casos de obesidade materna,  
365 podendo afetar filhotes de ambos os sexos, e conseqüentemente impor efeitos  
366 negativos sobre as futuras gerações (GREGORASZCZUK et al., 2016).  
367 Enquanto a ingestão abundante de ácidos graxos e glicose se associa a uma  
368 excessiva carga de hormônios que desencadeiam a infiltração de células imunes

369 durante a vida fetal por meio de inúmeras vias metabólicas relacionadas a efeitos  
370 obesogênicos caracterizados por uma via de programação de glicocorticoides,  
371 conhecida como memória metabólica (BEZPALKO et al., 2015).

372 A ingestão de uma dieta hiperlipídica por ratas durante a gestação pode  
373 causar alterações no desenvolvimento da vascularização na placenta,  
374 ocasionando uma redução na oxigenação para o feto (HAYES et al., 2012;  
375 POSSIGNOLO, 2012). De acordo com Krasnow et al. (2011), em modelos  
376 utilizando ratos, a prole de fêmeas submetidas a dieta hipercalórica apresentou  
377 um maior percentual de gordura corporal, e menor de massa, e um fígado maior  
378 ao primeiro dia de nascido.

379 Outras complicações para a prole associadas ao consumo de uma dieta  
380 hiperlipídica durante a gestação e lactação são a maior susceptibilidade em  
381 apresentar obesidade, resistência à insulina, hipertensão, dislipidemias,  
382 resistência hipotalâmica à leptina e até mesmo mudanças comportamentais  
383 como ansiedade (FÉRÉZOU-VIALA et al., 2007; SULLIVAN et al., 2010;  
384 POSSIGNOLO, 2012). Desse modo, um consumo nutricional excessivo durante  
385 a gestação predispõe a disfunções metabólicas na vida adulta da prole  
386 (MOURALIDARANE et al., 2013). A alta adiposidade durante a prenhez,  
387 também, pode induzir a expressão de mediadores pró-inflamatórios na placenta,  
388 e assim, acarretar em uma maior probabilidade de inflamação placentária  
389 colaborando com estabelecimento de um ambiente intrauterinos hostil, ou com  
390 uma disfunção fetoplacental, resultando num prejuízo das trocas de nutrientes e  
391 do fluxo sanguíneo placentário (MAHANY et al., 2016).

392

### 393 1.3. Histofisiologia do Baço

394

395 O baço, na espécie humana, é um órgão ovóide, sendo o maior do sistema  
396 linfático secundário em humanos, especializado em filtrar e capturar antígenos  
397 presentes no sangue, de modo, a apresentar respostas a infecções sistêmicas,  
398 configurando um papel essencial na resposta imunológica inata contra invasões  
399 de antígenos. Localizado no abdome, logo abaixo do diafragma e próximo ao

400 estômago, ele é caracterizado como o maior filtrador de sangue do corpo  
401 humano (MEBIUS; KRAAL, 2005; MONTES, 2013). Sendo estruturalmente  
402 organizado pela região de polpa vermelha, abastada de macrófagos e eritrócitos,  
403 desempenha um rico papel em monitorar os patógenos pelo sangue, removendo  
404 eritrócitos antigos e reciclando ferro. Além disso, na região de polpa branca,  
405 encontram-se uma abundância de linfócitos que suportam respostas imunes  
406 específicas ao antígeno (GOLUB et al., 2018).

407 Este é um órgão possui uma capsula fibrosa de tecido conjuntivo  
408 formando as trabéculas, estruturas que sustentam a vasculatura maior, enquanto  
409 os ramos menores arteriais são revestidos de tecido linfóide que compõe a polpa  
410 branca. Esta capsula é organizada por bainhas linfóides que possuem  
411 compartimentos com células do tipo T e B ao redor dos vãos arteriais (MEBIUS;  
412 KRAAL, 2005). E sabe-se, também, que 55% dos linfócitos que estão localizados  
413 em seu parênquima se encontram posicionados nos corpúsculos esplênicos  
414 (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; GIRARDI et al., 2014). De acordo com Laskar  
415 et al. (2018) o índice de estimulação de células T neste órgão serve como uma  
416 indireta mensuração da resposta imune pelo organismo.

417 As fibras reticulares estão presentes em abundancia neste órgão,  
418 servindo de arcabouço, promovendo a sustentação. Desse modo, são  
419 principalmente encontradas na polpa vermelha, juntamente com células como  
420 macrófagos, linfócitos, plasmócitos, monócitos, leucócitos, entre outras  
421 (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). Assim, a polpa vermelha compõe um  
422 importante sistema de filtração sanguínea do baço, com ênfase na reciclagem  
423 de ferro por meio dos macrófagos esplênicos. (MEBIUS; KRAAL, 2005).

424 O baço apresenta também a função de centro hematopoiético até uma  
425 fase tardia do período fetal, retendo sua potencialidade em formar células do  
426 tecido sanguíneo mesmo durante a fase adulta (SILVA, 2004). Além das  
427 previamente citadas funções, manifesta a atividade de destruição dos eritrócitos  
428 e plaquetas envelhecidos e a formação de novos linfócitos (JUNQUEIRA;  
429 CARNEIRO, 2004; BALESTIERI, 2006; ARAÚJO, 2011). Por desempenhar um  
430 papel tão fundamental na defesa corporal contra hospedeiros, esse se faz de  
431 extrema importância, assim, a sua ausência é frequentemente associada à uma

432 disfunção e imunodeficiência, levando ao aumento no risco de infecções  
433 assoladoras (GOLUB et al., 2018).

434

#### 435 1.4. Dieta Hipercalórica e o Baço associados ao Sistema Imune 436

437 Estudos indicam ainda que a obesidade e a ingestão de uma dieta  
438 hipercalórica induzem o desenvolvimento de esplenomegalia (RASHID;  
439 ROBERTS, 2000; ALTUNKAYNAK et al., 2007; SILVA, 2016). Dessa forma, a  
440 obesidade se caracteriza como uma condição crônica que ocasiona inflamação  
441 devido ao aumento secreção de citocinas pró-inflamatórias, como o fator de  
442 necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), a interleucina 6 (IL-6), além da leptina, por adipócitos  
443 hipertróficos (MAHANY et al., 2018).

444 A IL-10 é caracterizada por ser uma importante citocina anti-inflamatória  
445 capaz de reduzir a síntese de citocinas pró-inflamatórias. Assim, grandes  
446 quantidades de IL-10 são produzidas por células B ativas que amadurecem na  
447 zona marginal do baço, e ao mesmo tempo pesquisas apontam essas células  
448 desempenham um importante papel em regular a supressão de respostas  
449 imunes. Enquanto isso a dieta hipercalórica se mostrou capaz de reduzir a  
450 expressão de CD20, uma molécula presente na superfície de células B, ao  
451 mesmo tempo que os níveis de 4-HNE, um marcador de estresse oxidativo, e de  
452 apoptose se mostraram elevados na zona marginal do baço, implicando que  
453 obesidade induzida por uma dieta rica em gorduras leva a uma diminuição na  
454 expressão das células B, promovendo um estresse oxidativo e apoptose no  
455 baço. (PESTKA et al., 2004; GOTOH et al., 2012; 2017).

456 Estudos realizados em ratos obesos mostraram aumento de citocinas pró-  
457 inflamatórias, IL-6 e TNF- $\alpha$  no baço, enquanto a citocina IL-10 tem sua síntese  
458 diminuída, esta que teria a função de inibir a síntese de citocinas pró-  
459 inflamatórias (MONTES, 2013). Essas adipocinas favorecedoras do processo  
460 inflamatório induzem o estresse oxidativo e a resistência à leptina, levando a  
461 alterações tanto na imunidade inata quanto na imunidade adquirida, confirmando  
462 a conexão do tecido adiposo com o sistema imunitário, e assim corroborando

463 com a ideia da diminuição da atividade imune em indivíduos obesos (MONTES,  
464 2013).

465 De acordo com Gotoh et al (2017) uma dieta hipercalórica causa uma  
466 inflamação crônica, e essa por sua vez ao longo prazo promove em resposta  
467 uma modificação irreversível na organização celular corporal por meio de uma  
468 falha adaptativa em resposta ao estresse.

469 Segundo Cui et al. (2010), em uma análise sobre proteoma de linfócitos  
470 esplênicos de ratos tratados com dieta hipercalórica foi observado mudanças na  
471 expressão de proteínas associadas a funções celulares, como citoesqueleto,  
472 metabolismo energético e estresse oxidativo, transdução de sinal e células de  
473 defesa.

474 Essas perturbações no sistema imune associadas ao incremento nos  
475 índices de estresse oxidativo em inúmeros tecidos promovem o aumento na  
476 produção de radicais livres, dessa forma, é possível observar as consequências  
477 de um consumo excessivo de dietas ricas em gorduras e a obesidade sobre o  
478 baço e o sistema imune (GUIMARÃES-SOUZA et al., 2015; SILVA, 2016). A  
479 oxidação é um processo natural dos organismos, sendo fundamental a vida  
480 aeróbica e ao nosso metabolismo, desse modo, radicais livres são produzidos  
481 espontaneamente, mas em casos de disfunções biológicas seus índices podem  
482 aumentar de maneira significativa atingindo um desequilíbrio com a capacidade  
483 antioxidante endógena (BARREIROS et al., 2006).

484 Assim, as espécies reativas de oxigênios podem ocasionar danos a  
485 estrutura do DNA, afetando a fisiologia do envelhecimento e a oxidação de  
486 ácidos graxos polissaturados, lipídios presentes na membrana plasmática,  
487 aminoácidos e vários cofatores, agredindo proteínas de vários tecidos, enzimas  
488 e carboidratos (BARREIROS et al., 2006; YONEI et al., 2010).  
489 Conseqüentemente, esse desequilíbrio é o predominante fator em muitas  
490 doenças, tais como neurodegeneração, artrite, choque hemorrágico, doenças do  
491 coração, disfunções cognitivas, doenças imunes, inflamatórias e mitocondriais  
492 (BARREIROS et al., 2006; SINGH; JADHAV, 2014).

493

## 494 1.5. Melatonina 495

496 A melatonina é uma indolamina sintetizada a partir do triptofano, e  
497 produzida, principalmente, pela glândula pineal, durante o período da noite,  
498 pelas células parenquimatosas em resposta as informações luminosas recebidas  
499 pelo trato retino-hipotalâmico, mas sua síntese pode ser observada em outros  
500 tecidos, como no trato gastrointestinal, nos folículos pilosos epiteliais, na pele,  
501 retina, glândulas salivares, plaquetas, linfócitos, e no cérebro em  
502 desenvolvimento (BUBENIK et al., 2002; ILLONA et al., 2009; ZAGAJEWSKI et  
503 al., 2012; YOSHIDA, 2013; SINGH; JADHAV, 2014). Tendo sua produção  
504 também observada no baço, timos e fígado de ratos (REN et al., 2017).

505 Sobre esta, é conhecido seu importante papel de ação como antioxidante,  
506 e outras demais funções, como modulador de humor, sono, comportamento  
507 sexual e, essencial para informações do fotoperíodo e regulação de diversas  
508 funções endócrinas (REITER et al, 2003; SHIMOZUMA et al., 2011; VISHWAS;  
509 HALDAR, 2013; SINGH; JADHAV, 2014). Sua importância é tão notável para a  
510 manutenção do metabolismo que além dos mamíferos, observa-se também a  
511 sua produção em praticamente todos as formas de vidas, como plantas, fungos  
512 e bactérias (REN et al., 2017). De maneira que, do ponto de vista evolutivo, a  
513 função original e primária da melatonina teria sido servir como um removedor de  
514 radicais livres e antioxidante, sendo consistente com sua presença em bactérias  
515 fotossintetizantes primitivas (TAN et al., 2015).

516 Assim, observa-se que a grande eficácia do papel antioxidante da  
517 melatonina se relaciona com o funcionamento em cascata de seus metabólitos  
518 secundários e terciários que também são capazes de neutralizar numerosos  
519 derivados tóxicos de oxigênio (TAN et al., 2015). Outros métodos de ação podem  
520 ser observados na via direta, da desintoxicação de EROS e espécies reativas de  
521 nitrogênio, ou por via indireta, estimulando enzimas antioxidantes enquanto  
522 suprime a atividade de enzimas pró-oxidantes (REITER et al., 2016)

523 Ademais, essa indolamina possui um importante papel na regulação da  
524 glicose no metabolismo, sendo observado que a sua administração em ratos  
525 obesos diabéticos aumenta os níveis sanguíneos de gordura neutra e ácidos

526 graxos livres, enquanto reduz as taxas sanguíneas de glicemia, fator de necrose  
527 tumoral (TNF- $\alpha$ ) e colesterol (BAZWINSKY-WUTSCHEK et al., 2014; SINGH;  
528 JADHAV, 2014). O tratamento com melatonina promove a redução do ganho de  
529 peso, adiposidade visceral e triglicerídeos sanguíneos causados por uma dieta  
530 hipercalórica em ratos obesos (TERRON et al., 2013; SINGH; JADHAV, 2014).  
531 Segundo Mateos et al. (2007), receptores de melatonina também são  
532 encontrados em adipócitos, nos quais a leptina é sintetizada, regulando a  
533 ingestão de alimentos e o gasto energético.

534 Receptores MT1 são encontrados no timo e baço, nas células B, T CD4+,  
535 e T CD8+ (CARILLO-VICO et al., 2005; SINGH; JADHAV, 2014; SILVA, 2016).  
536 Os receptores de melatonina nessas células linfáticas permitem que a  
537 melatonina seja capaz de modular a proliferação de linfócitos (POZO et al., 1997;  
538 LASKAR, SINGH, et al., 2018) Segundo Czechowska et al. (2015) e Hu et al.  
539 (2016), a melatonina é capaz de reduzir os níveis de estresse oxidativo e  
540 citocinas pró-inflamatórias, do tipo TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, durante o desenvolvimento  
541 da fibrose hepática, enquanto IL-10 é uma citocina anti-inflamatória e antifibrótica  
542 que tem sua produção estimulada pela melatonina (CZECHOWSKA et al., 2015).  
543 De acordo com Yoo et al. (2016) esta indolamina mostrou potencial em aumentar  
544 o funcionamento das células de defesa, em função de restabelecer o sistema  
545 imunológico em pacientes idosos e imunocomprometidos.

546

#### 547 1.6. Melatonina e Dieta Hipercalórica

548

549 Estudos que relacionam a obesidade e o tratamento com melatonina,  
550 demonstram redução do ganho de peso, adiposidade visceral e triglicerídeos  
551 sanguíneos causados por uma dieta hipercalórica em ratos obesos (TERRON et  
552 al., 2013; SINGH; JADHAV, 2014). Segundo Trufakin et al. (2014), a melatonina  
553 é capaz de normalizar alguns parâmetros na composição celular de órgãos  
554 imunes em ratos com obesidade alimentar, apontado o potencial desta em  
555 restaurar mecanismos imunorreguladores, e assim considerando o potencial  
556 papel deste hormônio para o tratamento de distúrbios lipídicos e no  
557 comprometimento da atividade imune em casos de obesidade.

558 Ainda de acordo com Trufakin et al. (2014), animais submetidos a dieta  
559 hipercalórica tiveram um aumento relativo nas células B no baço, em  
560 contrapartida, apresentaram uma redução no número de células T, sendo  
561 observado que o tratamento com melatonina normalizou esses parâmetros.  
562 Assim, entre essas propriedades imunoestimulatórias da melatonina, a mesma  
563 apresenta atividades anti-inflamatórias em condições de inflamação não-alérgica  
564 (SZCEPANIK et al., 2007; CALVO et al., 2013; SINGH; JADHAV, 2014).

565 Segundo Silva (2016), no baço de ratas prenhes tratadas com dieta  
566 hipercalórica foi observado um aumento das fibras colágenas, nas quais  
567 citocinas pró-inflamatórias como IL-6 e TNF- $\alpha$  atuaram como promotores da  
568 fibrose. E esta última, a melatonina se apresentou capaz de reduzir seus níveis  
569 no baço.

570



571 **2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

572

573 ALTUNKAYNAK, B. Z.; et al. A stereological and histological analysis of spleen  
574 on obese female rats, fed with high fat diet. **Saudi Med J**, v. 28, n. 3, p. 353-357,  
575 2007.

576 ARAÚJO, A. C. C. Investigação da ação da melatonina na dinâmica sanguínea  
577 de ratas prenhas e na histogênese do timo e do baço da prole. Recife, 2011.  
578 **Dissertação (Mestrado em Biociência Animal) - Universidade Federal Rural**  
579 **de Pernambuco**, Recife.

580 ARAÚJO, A. C. C.; et al. Ação da melatonina sobre a dinâmica sanguínea de  
581 ratas prenhas e sobre a histogênese do baço e do timo da prole. **Arq. Bras. Med.**  
582 **Vet. Zootec.**, v. 65, n. 2, p.404-414, 2013.

583 BALESTIERI, F. M. P. Imunologia. São Paulo, **Manole**, p. 3-21, 2006.

584 BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M. DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação  
585 entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quim. Nova**, v. 29,  
586 n. 1, p. 113-123, 2006.

587 BAZWINSKY-WUTSCHEK, I.; et al. Influence of melatonin receptor signalling on  
588 parameters involved in blood glucose regulation. **J. Pineal Res**, v. 56, p. 82–96,  
589 2014.

590 BEZPALKO L.; et al. Inflammatory response in visceral fat tissue and liver is  
591 prenatally programmed: Experimental research. **J Physiol Pharmacol**, v. 66, n.  
592 1, p. 57-64.

593 BLUMENKRANTZ, M. Obesity: the world's metabolic disorder [online]. Beverly  
594 Hills, 1997. [citado em 28/8/97]. Available from WWW: <URL:http://  
595 www.quantumhpc.com,obesity.htm >.

596 BOO, H.A.; HARDING, J.E. The developmental origins of adult disease (Barker)  
597 hypothesis. **Aust N Z J Obstet Gynaecol**. v. 46, p. 4-14, 2006.

598 BORENGASSER, S.J.; et al. High fat diet and in utero exposure to maternal  
599 obesity disrupts circadian rhythm and leads to metabolic programming of liver in  
600 rat offspring. **PLoS One**. v. 9, n. 1, p. 1-13, 2014.

601 BORENGASSER, S.J.; et al. Maternal obesity enhances white adipose tissue  
602 differentiation and alters genome-scale DNA methylation in male rat offspring.  
603 **Endocrinology**. v. 154, n. 11, p. 4113-4125, 2013.

604 BORENGASSER, S.J., et al. Maternal obesity during gestation impairs fatty acid  
605 oxidation and mitochondrial SIRT3 expression in rat offspring at weaning. **PLoS**  
606 **One**. v. 6, n. 8, p. 1-9, 2011.

607 BUBENIK, G.A. Gastrointestinal melatonin: localization, function, and clinical  
608 relevance. **Dig. Dis. Sci**. v. 47, p. 2336–2348, 2002.

609 CALVO, J.R. et al. The role of melatonin in the cells of the innate immunity: a  
610 review. **J. Pineal Res**. v. 55, p. 103–120, 2013.

- 611 CATALANO, P.M.; EHRENBERG, H.M. The short- and long-term implications of  
612 maternal obesity on the mother and her offspring. **BJOG An Int J Obstet**  
613 **Gynaecol.** v. 113, n. 10, p. 1126-1133, 2006.
- 614 CARRILO-VICO, A.; et al. Expression of melatonin a growth factors mRNA in the  
615 rat placenta during mid-late pregnancy. **J Veterinary Sci**, v. 6, p. 179-183, 2005.
- 616 CZECHOWSKA G.; et al. Protective effects of melatonin against thioacetamide-  
617 induced liver fibrosis in rats. **J Physiol Pharmacol**, v. 66, p. 567–579, 2015.
- 618 CUI, J.; et al. Comparative proteome analysis of splenic lymphocytes in long-term  
619 high-fat diet and dietary supplement with lipoic acid mice. **Cell Immunol**, v. 264,  
620 p. 156-62, 2010.
- 621 FÉRÉZOU-VIALA, J.; et al. Long-term consequences of maternal high-fat feeding  
622 on hypothalamic leptin sensitivity and diet-induced obesity in the offspring. **Am J**  
623 **Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 293, p. R1056–R1062, 2007.
- 624 FLEGAL, K.M.; et al. Prevalence of obesity and trends in the distribution of body  
625 mass index among US adults, 1999- 2010. **JAMA** v. 307, p. 491-497, 2012.
- 626 FRANSCICHI, R. P.; et al. Obesidade: atualização sobre sua etiologia,  
627 morbidade e tratamento. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 13, n. 1, p. 17-28, 2000.
- 628 FRUH, S. Obesity: Risk factors, complications, and strategies for sustainable  
629 long-term weight management. **J Am Acad Nurse Pract**, v. 29, p. S3–S14, 2017.
- 630 GAO, L. F.; et al. Effects of Maternal High-Fat Diets During Pregnancy And  
631 Gestation With Phytosterols Supplementation on Oxidative Status In Neonate,  
632 Sucking And Adult Offspring. **Obese**, 2016.
- 633 GIRARDI, A. M.; et al. Avaliação morfológica do baço de coelhos Nova Zelândia  
634 Branco tratados com gentamicina. **Nucleus Animalium**, v. 6, n. 1, 2014.
- 635 GOHIR W.; et al. High-fat diet intake modulates maternal intestinal adaptations  
636 to pregnancy and results in placental hypoxia, as well as altered fetal gut barrier  
637 proteins and immune markers. **J Physiol**, v. 597, n.12, p. 3029-3051, 2019.
- 638 GOLUB, R.; et al. Origin and Immunological Functions of Spleen Stromal Cells.  
639 **Trends Immunol**, v. 39, n. 6, p. 503-514, 2019.
- 640 GOTOH, K. Role of spleen-derived IL-10 in prevention of systemic low-grade  
641 inflammation by obesity. **Endocr J**, v. 64, n. 4, p. 375-378, 2017.
- 642 GOTOH, K. A novel anti-inflammatory role for spleen-derived interleukin-10 in  
643 obesity-induced hypothalamic inflammation. **J Neurochem**, v. 120, n. 5, p. 752-  
644 64, 2012.
- 645 GREGORASZCZUK, E.; et al. Maternal high-fat diet during pregnancy and  
646 lactation had gender difference effect on adiponectin in rat offspring. **J Physiol**  
647 **Pharmacol**, v. 67, n. 4, p. 543-553, 2016.
- 648 GUIMARÃES-ROSA, N. K.; et al. Produção aumentada de superóxido e fibrose  
649 renal: novo modelo animal. **Einstein**, v. 13, n.1, 2015.

- 650 HAMAGUCHI, M.; et al. The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic  
651 fatty liver disease. **Ann Intern Med**, v. 143, p. 722-728, 2005.
- 652 HAYES, E. K.; LECHOWICZ, A.; PETRIK, J. J. Adverse Fetal and Neonatal  
653 Outcomes Associated with a Life-Long High Fat Diet: Role of Altered  
654 Development of the Placental Vasculature. **Plos one**, v. 7, n. 3, 2012.
- 655 HU, W.; et al. Melatonin: the dawning of a treatment for fibrosis? **J Pineal Res**,  
656 v. 60, n. 2, p. 121-31, 2016.
- 657 IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Pesquisa  
658 Nacional de Saúde (PNS) - 2013. Rio de Janeiro, 2014.
- 659 IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. IBGE dá  
660 início à Pesquisa Nacional de Saúde (PNS) 2019. Disponível em <  
661 <https://www.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 29 de out. 2019.
- 662 ILONA, I.; et al. Effect of melatonin on human keratinocytes and fibroblasts  
663 subjected UVA and UVB radiation in vitro. **In Vivo**, v. 23, p. 739–746. 2009.
- 664 JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Histologia básica: texto e atlas. 10.ed. Rio de  
665 Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2004.
- 666 JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Histologia básica: texto e atlas. 12.ed. Rio de  
667 Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2013.
- 668 KELLY, T.; et al. Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. **Int J**  
669 **Obes**. v. 32, p. 1431 – 1437, 2008.
- 670 KERSHAW E. E.; FLIER J. S. Adipose Tissue as an Endocrine Organ. **J Clin**  
671 **Endocrinol Metab**. v. 89, n. 6, p. 2548-56, 2004.
- 672 KORTT, M. A.; CLARKE, P. M. Estimating Utility Values for Health States of  
673 Overweight and Obese Individuals Using the SF-36. **Qual Life Res**, v. 14, p  
674 2177-2185, 2005.
- 675 KRASNOW, S. M.; NGUYEN, M. L. T.; MARKS, D. L. Increased maternal fat  
676 consumption during pregnancy alters body composition in neonatal mice. **Am J**  
677 **Physiol - Endocrinol Metab**, v. 301, n. 6, p. E1243-53, 2011.
- 678 LASKAR, P.; SINGH, S. S. Melatonin Modulates Thyroid Hormones and  
679 Splenocytes Proliferation Through Mediation of Its MT1 and MT2 Receptors in  
680 Hyperthyroid Mice. **Proc Zool Soc**, v. 71, n. 2, p. 186-193, 2018.
- 681 LEDDY, M. A.; POWER, M. L.; SCHULKIN, J. The impact of maternal obesity on  
682 maternal and fetal health. **Rev Obstet Gynecol**. v, 1, n. 4, p. 170-178, 2008.
- 683 LEITE, L. D.; ROCHA, E. D. M.; NETO-BRANDÃO, J. Obesidade: uma doença  
684 inflamatória. **Ciênc. Saúde Colet.**, Porto Alegre, v. 2, n. 2, p. 85-95, 2009.
- 685 MAHANY, E. B.; et al. Obesity and High-Fat Diet Induce Distinct Changes in  
686 Placental Gene Expression and Pregnancy Outcome. **Endocrinology**, v. 159, n.  
687 4, p. 1718-1733, 2018.
- 688 MARCOVECCHIO M.; MOHN, A.; CHIARELLI, F. Type 2 diabetes mellitus in  
689 children and adolescents. **J Endocrinol Invest** v. 28, p. 853- 863, 2005.

- 690 MATEOS, S. S; et al. Melatonin and estradiol effects on food intake body weight  
691 and leptin in ovariectomized rats. **Maturitas**, v. 58, p. 91–101, 2007.
- 692 MEBIUS, R. E.; KRAAL, G. Structure and Function of The Spleen. **Nature**  
693 **Publishing Group**, v. 5, p. 606-616, 2005.
- 694 MONTEIRO, C.A.; et al. Da desnutrição para a obesidade – a transição  
695 nutricional no Brasil. Velhos e novos males da Saúde Pública no Brasil: a  
696 evolução do país e de suas doenças. **Eur J Clin Nutr.**, v. 49, p. 105-13,1995.
- 697 MONTES, E. G. O Efeito da Esplenectomia sobre a Obesidade Induzida por  
698 Glutamato Monossódico (MSG). 2013. **Dissertação (Mestrado em Biologia**  
699 **Evolutiva) – Universidade Estadual de Ponta Grossa**, Ponta Grossa.
- 700 MOURALIDARANE, A.; et al. Maternal obesity programs offspring non-alcoholic  
701 fatty liver disease through disruption of 24-h rhythms in mice. **Int J Obes.** v. 39,  
702 n. 9, p. 1339-1348, 2015.
- 703 MOURALIDARANE, A.; et al. Maternal obesity programs offspring nonalcoholic  
704 fatty liver disease by innate immune dysfunction in mice. **Hepatology.** v. 58, n.  
705 1, p. 128-138, 2013.
- 706 OBEN, J. A.; et al. Maternal obesity during pregnancy and lactation programs the  
707 development of offspring non-alcoholic fatty liver disease in mice. **J Hepatol.** v.  
708 52, n. 6, p. 913-920, 2010.
- 709 PEREIRA, L. O.; et al. Obesidade e suas Implicações – Ação da Atividade Física  
710 e Controle Nutricional. **Rev Bras Nutr Clin**, v. 14, p. 9-17, 1999.
- 711 PESTKA, S.; et al. Interleukin-10 and related cytokines and receptors. **Annu Rev**  
712 **Immunol**, v. 22, p. 929-79, 2004.
- 713 POSSIGNOLO, L.F. Effect of high fat diet chronic ingestion on the metabolism of  
714 female rats, and on the sr-bi and abca1 expression in the placenta, small  
715 intestine, liver and kidney of the offspring. **Dissertação de Mestrado**, p. 176,  
716 2012.
- 717 POZO, D.; et al. Expression of melatonin receptor mRNA in T and B subsets of  
718 lymphocytes from rat thymus and spleen. **FASEB J.**, v. 11, n. 6, p. 466–473,  
719 1997.
- 720 QIN J.; et al. Study on the characteristics of inheritance and epidemiology in one  
721 pedigree with gallstone disease. **Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi**, v. 26, p  
722 448-450, 2005.
- 723 RASHID M.; ROBERTS E. A. Nonalcoholic steatohepatitis in children. **J Pediatr**  
724 **Gastroenterol Nutr**, v. 30, p. 48-53, 2000.
- 725 REITER, R. J.; et al. Melatonin as an antioxidant: under promises but over  
726 delivers. **J Pineal Res**, v. 61, n. 3, p. 253-78, 2016.
- 727 REITER, R. J.; et al. Obesity and metabolic syndrome: Association with  
728 chronodisruption, sleep deprivation, and melatonin suppression. **Ann Med.** v. 44,  
729 n. 6, p. 564-577, 2012.

- 730 REITER, R. J.; et al. Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanisms and  
731 pathophysiological implications in humans. **Acta Biochim Pol**, v. 50, n. 4, p.  
732 1129-46, 2003
- 733 REN, W.; et al. Melatonin signaling in T cells: Functions and applications. **J**  
734 **Pineal Res**, v. 62, n. 3, 2017
- 735 SHIMOZUMA, M.; et al. Expression and cellular localizaion of melatonin-  
736 synthesizing enzymes in rat and human salivary glands. **Histochem Cell Biol**, v.  
737 135, n. 4, p. 389-96, 2011.
- 738 SILVA, K.R. Análise histológica do desenvolvimento do timo e baço em fetos de  
739 ratos (*Rattus norvegicus albinus*) submetidos à iluminação constante e ausência  
740 da luz. Recife, 2004. **TCC (graduação em Licenciatura em Ciências**  
741 **Biológica) - Universidade Federal Rural de Pernambuco**, Recife.
- 742 SILVA, S. B. Influência da melatonina exógena sobre parâmetros sanguíneos,  
743 hormonais, metabólicos e inflamatórios em ratas alimentadas com dieta  
744 hipercalórica durante a prenhez. Recife, 2016. **Tese (Doutorado em Biociência**  
745 **Animal) - Universidade Federal Rural de Pernambuco**, Recife.
- 746 SILVA, W. E. Ação da melatonina exógena na cirrose hepática experimental e  
747 seus efeitos sobre o rim e baço de ratos albinos Recife, 2017. **Tese (Doutorado**  
748 **em Biociência Animal) - Universidade Federal Rural de Pernambuco**, Recife.
- 749 SINGH, M.; JADHAV, H. R. Melatonin: Functions and ligands. **Drug Discov**  
750 **Today**. v. 19, n. 9, p. 1410-1418, 2014.
- 751 SULLIVAN, E.L.; SMITH, M.S.; GROVE, K.L. Perinatal exposure to high-fat diet  
752 programs energy balance, metabolism and behavior in adulthood.  
753 **Neuroendocrinology**, v. 93, n. 1, p. 1-8, 2011.
- 754 SZCEPANIK, M. Melatonin and its influence on immune system. **J. Physiol.**  
755 **Pharmacol**, v. 6, p. 115–124, 2007.
- 756 TAN, D. X.; et al. Melatonin as a Potent and Inducible Endogenous Antioxidant:  
757 Synthesis and Metabolism. **Molecule**, v. 20, n. 10, p. 18886- 18906, 2015.
- 758 TEIXEIRA, L. G. Interação entre obesidade induzida por dieta hiperlipídica e  
759 colite crônica aumenta reciprocamente a inflamação no tecido adiposo e no  
760 cólon. 2012. **Tese (Doutorado em Bioquímica) - Instituto de Ciências**  
761 **Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais**.
- 762 TERRON, M.P. et al. Melatonin reduces body weight gain and increase nocturnal  
763 activity in male Wistar rats. **Physiol Behav**. v. 118, p. 8–13. 2013.
- 764 TRUFAKIN, V. A.; et al. Effect of Melatonin on Cellular Composition of the Spleen  
765 and Parameters of Lipid Metabolism in Rats with Alimentary Obesity. **B Exp Biol**  
766 **Med**, v. 158, n. 1, p. 49-52, 2014.
- 767 TILG H.; MOSCHEN A. R. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue,  
768 inflammation and Immunity. **Nature Research**, v. 6, p. 772-83, 2006.
- 769 VISHWAS, D. K.; HALDAR, C. Photoperiodic induced melatonin regulates  
770 immunity and expression pattern of melatonin receptor MT1 in spleen and bone

- 771 marrow mononuclear cells of male golden hamster. **J Photoch Photobio B.**, v.  
772 128, p.107–114, 2013.
- 773 WANDERLEY, E. N.; FERREIRA, V. A. Obesidade: uma perspectiva plural.  
774 **Ciênc. Saúde Colet.**, v. 15, n. 1, p. 185-194, 2010.
- 775 WANG, Y.; et al. Will all Americans become overweight or obese? Estimating the  
776 progression and cost of the US obesity epidemic. **Obesity**, v. 16, p. 2323 – 2330,  
777 2008.
- 778 WHO. Obesity: Preventing And Managing The Global Epidemic, **Report of a**  
779 2000.
- 780 WHO. Obesity and overweight, 2018. Disponível em < <https://www.who.int/>>.  
781 Acesso em: 23 de jul. 2018.
- 782 YONEI, Y.; et al. Effects of melatonin: basic studies and clinical applications.  
783 **Anti-Ageing Med.** v. 7, p. 85–91. 2010.
- 784 YOO, Y. M.; et al. Pharmacological advantages of melatonin in  
785 immunosenescence by improving activity of T lymphocytes. **J Biomed Res**, v.  
786 30, n. 4, p. 314-21, 2016.
- 787 YOSHIDA, Y. Melatonin receptor MT1 is expressed in mouse skin and In vitro  
788 treatment enhances whisker growth. **J. Clin. Exp. Dermatol. Res.** v. 4, p. 1–5,  
789 2013.
- 790 ZAGAJEWSKI, J.; et al. Conversion of L-tryptophan to melatonin in the GIT: new  
791 HPLC method enabling simultaneous determination of six metabolites of L-  
792 tryptophan by native fluorescence and UV–VIS detection. **J. Phys. Pharmacol.**  
793 v. 63, p. 613–621, 2012.

794

795

796

797 **EFEITOS DE DIETA HIPERCALÓRICA ASSOCIADA OU NÃO A**  
798 **MELATONINA EXÓGENA DURANTE A GESTAÇÃO E LACTAÇÃO SOBRE**  
799 **HISTOFISIOLOGIA DO BAÇO NA PROLE**

800

801

802 Paloma Karen Bandeira de Melo Alpiovezza<sup>1</sup>, Clovis José Cavalcanti Lapa  
803 Neto<sup>1</sup>, Ismaela Maria Ferreira de Melo<sup>1</sup>, Érique Ricardo Alves<sup>1</sup>, Álvaro Aguiar  
804 Coelho Teixeira<sup>1</sup>, Valéria Wanderley Teixeira<sup>1</sup>

805

806

807 <sup>1</sup>Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal - Universidade Federal Rural de Pernambuco  
808 - Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n - Dois Irmãos, Recife - PE, 52171-900.

809

## RESUMO

810  
811

812 O consumo excessivo de dietas hipercalóricas durante a gestação pode  
813 acarretar estímulos desfavoráveis ao feto, uma vez que este possui a capacidade  
814 de se adaptar ao ambiente intrauterino. Neste sentido, a melatonina, um potente  
815 antioxidante, com funções imunoestimulatórias poderia atenuar efeitos  
816 prejudiciais desta dieta. Assim, a presente pesquisa teve como objetivo analisar  
817 os efeitos da ingestão de uma dieta hipercalórica, associada ou não a melatonina  
818 exógena, sobre o baço de filhotes de ratas que foram submetidas ao seu  
819 consumo durante toda a gestação e lactação. Foram utilizadas 40 ratas albinas  
820 prenhes divididas em 4 grupos: I: ratas submetidas à dieta padrão (C); II: ratas  
821 submetidas à dieta padrão e tratadas com melatonina (5 mg/Kg) (C+Mel); III:  
822 ratas submetidas à dieta hiperlipídica (DH) e IV: ratas submetidas à dieta  
823 hiperlipídica e tratadas com melatonina (5 mg/Kg) (DH+Mel). Após a coleta do  
824 baço dos filhotes foi realizada análises histopatológica, histoquímica,  
825 morfométrica e imunohistoquímica. Os resultados obtidos por meio da  
826 histopatologia e morfometria indicaram alterações na polpa branca no baço dos  
827 grupos submetidos a tratamento com melatonina, enquanto a coloração por  
828 impregnação argêntica mostrou uma diminuição de fibras no grupo tratado com  
829 melatonina. Sendo relatada uma diminuição da citocina IL-1 após a  
830 administração de melatonina quando comparado ao grupo DH. Concluindo que  
831 a melatonina apresenta um grande potencial em prevenir os efeitos da dieta  
832 hipercalórica, reduzindo a fibrose e inibir a síntese de IL-1 no baço.

833  
834  
835  
836  
837

**Palavras-chave:** saúde materna; imunohistoquímica; imunomodulação; dieta; histomorfometria.



**ABSTRACT**

838

839

840 Excessive consumption of hypercaloric diets during pregnancy can lead to  
841 unfavorable stimuli for the fetus, since it has the capacity to adapt to the  
842 intrauterine environment. In this sense, melatonin, a potent antioxidant, with  
843 immunostimulatory functions could mitigate the harmful effects of this diet. Thus,  
844 the present research aimed to analyze the effects of eating a high-calorie diet,  
845 associated or not with exogenous melatonin, on the spleen of puppies of rats that  
846 were subjected to their consumption throughout pregnancy and lactation. 40  
847 pregnant albino rats were divided into 4 groups: I: rats submitted to the standard  
848 diet (C); II: rats submitted to the standard diet and treated with melatonin (5  
849 mg/Kg) (C+Mel); III: rats submitted to the high-fat diet (DH) and IV: rats submitted  
850 to the high-fat diet and treated with melatonin (5 mg/kg) (DH+Mel).  
851 Histopathological, histochemical, morphometric and immunohistochemical  
852 analyzes were performed to collect the puppies' spleen. The results obtained by  
853 means of histopathology and morphometry indicated changes in the white pulp  
854 in the spleen of the groups elaborated to treatment with melatonin, while the  
855 staining by argon impregnation revealed a decrease of fibers in the group treated  
856 with melatonin. A decrease in the cytokine IL-1 has been reported after the  
857 administration of melatonin when compared to the DH group. In conclusion, a  
858 melatonin has a great potential to prevent the effects of the hypercaloric diet,  
859 fibrosis and inhibit the synthesis of IL-1 in the spleen.

860

861 **Keywords:** maternal health; immunohistochemical; immunomodulation; diet;  
862 histomorphometry.

## 863 1. INTRODUÇÃO

864 Dietas hipercalóricas associadas ao sedentarismo predispõe ao surgimento  
865 da obesidade (KELLY et al., 2008; WANG et al., 2008; REITER et al., 2012).  
866 Sendo esta associada a uma disfunção imunológica (QIN et al., 2005;  
867 HAMAGUCHI et al., 2005; ALTUNKAYNAK et al., 2007). E segundo a  
868 Organização Mundial de Saúde, se observa uma prevalência 15% de obesidade  
869 em mulheres, contra 11% em homens (WHO, 2018). Enquanto no Brasil, de  
870 acordo com o IBGE (2016), essa prevalência aumenta para o índice de 24,4%  
871 de mulheres obesas e 16,8% de homens. De modo que esses altos indicativos  
872 de associação entre sobrepeso e obesidade representam um alarmante sinal  
873 para possíveis disfunções referentes a saúde reprodutiva da mulher. Ao mesmo  
874 tempo, estudos indicam que a prevalência de mulheres obesas em idade  
875 reprodutiva está aumentando, aproximando-se 35% naquelas entre 20-39 anos  
876 (FLEGAL et al., 2012)

877 A saúde materna é imprescindível para a estabilidade do ambiente uterino,  
878 apresentando um significativo impacto para o desenvolvimento fetal. Assim,  
879 obesidade materna oportunizar o surgimento de complicações podem afetar a  
880 progressão da gestação e a saúde da prole durante toda sua vida (BOO et al.,  
881 2006; CATALANO et al., 2006; LEDDY et al., 2008). Ainda que o feto apresente  
882 uma grande habilidade de regular seu metabolismo aos estímulos recebidos  
883 durante a vida fetal, os mesmos podem se tornar prejudiciais no ambiente pós-  
884 natal (POSSIGNOLO, 2012). Um acúmulo de adipócitos durante a prenhez pode  
885 induzir um aumento na expressão de citocinas pró-inflamatórias na placenta,  
886 ocasionando uma inflamação placentária que conduz ao estabelecimento de um  
887 ambiente intrauterinos hostil (MAHANY et al., 2016).

888 O baço é o maior órgão do sistema linfático secundário em humanos,  
889 apresentando função imunológica e hematopoiética (MEBIUS; KRAAL, 2005;  
890 MONTES, 2013). Além de apresentar a atividade de destruição dos eritrócitos e  
891 plaquetas envelhecidos e a formação de novos linfócitos (BALESTIERI, 2006;  
892 ARAÚJO, 2011).

893 Estudos realizados em ratos obesos mostraram aumento de citocinas pró-  
894 inflamatórias, IL-6 e TNF- $\alpha$  no baço, enquanto a citocina anti-inflamatória IL-10,  
895 responsável por inibir a síntese das anteriormente citadas, teve uma expressão  
896 reprimida (MONTES, 2013). Essas adipocinas pró-inflamatórias induzem o  
897 estresse oxidativo, consequentemente, promovendo o aumento na produção  
898 espécies reativas de oxigênio, de maneira a influência expressar de um consumo  
899 excessivo de dietas ricas em gorduras sobre o baço e o sistema imune  
900 (MONTES, 2013; GUIMARÃES-SOUZA et al., 2015; SILVA, 2016).

901 O desequilíbrio entre as espécies reativas de oxigênio e a capacidade  
902 antioxidante endógena pode ocasionar danos a estrutura do DNA, a oxidação de  
903 ácidos graxos polissaturados, e outras estruturas, assim, facilitando o  
904 surgimento de diversos distúrbios e doenças (HARDELAND et al., 2005;  
905 BARREIROS et al., 2006; YONEI et al., 2010; SINGH; JADHAV, 2014).

906 A melatonina sintetizada a partir do triptofano, principalmente, pela  
907 glândula pineal, durante o período da noite, apresenta um importante papel de  
908 ação antioxidante, imunomodulador, além da regulação de diversas funções  
909 endócrinas (REITER et al, 2003; SHIMOZUMA et al., 2011; VISHWAS; HALDAR,  
910 2013; SINGH; JADHAV, 2014).

911 Assim, visando o desenvolvimento de possíveis disfunções no baço e  
912 sistema imune em filhotes de ratas submetidas a dieta rica em gordura, a  
913 presente pesquisa tem o objetivo de investigar o potencial de ação da melatonina  
914 exógena sobre a histofisiologia do baço da prole de matrizes submetidas a dieta  
915 hipercalórica durante a gestação e lactação.

916

## 917 **2. OBJETIVOS**

### 918 2.1. Geral

919

920 Analisar os possíveis efeitos da administração de uma dieta hipercalórica  
921 durante a gestação e lactação de ratas sobre a histofisiologia do baço  
922 dos filhotes e como a melatonina exógena pode influenciar nesse  
923 processo.

924

## 925 2.2. Específicos

926

- 927 • Analisar a histopatologia do baço de filhotes tratados ou não com  
928 melatonina;
- 929 • Analisar a histoquímica pelo método de impregnação argêntica do baço  
930 de filhotes tratados ou não com melatonina;
- 931 • Analisar morfometricamente o baço de filhotes tratados ou não com  
932 melatonina;
- 933 • Analisar imunohistoquimicamente a presença da interleucina pró-  
934 inflamatórias IL-1 no baço de filhotes tratados ou não com melatonina.

935

936 **3. MATERIAL E MÉTODOS**

## 937 3.1. Obtenção dos Animais

938 O experimento foi realizado no Laboratório de Histologia do Departamento  
939 de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco  
940 com aprovação da Comissão de Ética Institucional (CEUA), por licença de  
941 número: 012/2014.

942 Foram utilizadas 40 ratas albinas *Rattus norvegicus albinus* com 90 dias  
943 de idade, com 200g±30, linhagem Wistar, procedentes do Biotério do  
944 Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE. Vinte fêmeas foram  
945 mantidas em gaiolas com alimentação comercial Labina® e água “*ad libitum*” e  
946 as outras vinte receberam dieta hipercalórica, previamente padronizada por  
947 Estadella (2001), e água *ad libitum*, formando-se assim 4 grupos de matrizes:

948 **Grupo I:** 10 ratas prenhes submetidas à dieta padrão durante toda a  
949 gestação e período de lactação (C);

950 **Grupo II:** 10 ratas prenhes submetidas à dieta padrão e tratadas com  
951 melatonina durante toda a gestação e período de lactação (C+MEL);

952 **Grupo III:** 10 ratas prenhes submetidas à dieta hipercalórica durante toda  
953 a gestação e período de lactação (DH) ;

954 **Grupo IV:** 10 ratas prenhes submetidas à dieta hipercalórica e tratadas  
955 com melatonina durante toda a gestação e período de lactação  
956 (DH+MEL).

957

### 958 3.2. Inclusão no Experimento e Diagnóstico de Prenhez

959 Após a realização de exames colpocitológicos, as fêmeas que  
960 apresentaram três ciclos estrais regulares foram acasaladas na proporção de um  
961 macho para três fêmeas sempre no início da noite (19:00 horas). Pela manhã  
962 (7:00 horas), o diagnóstico da prenhez foi realizado através do exame  
963 colpocitológico.

964

### 965 3.3. Tratamento com Melatonina

966 A administração de melatonina foi realizada nas ratas dos grupos II e IV  
967 de acordo com o protocolo estabelecido por KIM et al, (1998). A dose de  
968 melatonina (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo., USA) administrada foi de 5  
969 mg/Kg, dissolvida diariamente em 100 microlitros de álcool, diluída em 300  
970 microlitros de soro e aplicada sempre no início da noite (18:00 horas).

971

### 972 3.4. Histopatologia, Histoquímica e Morfometria do Baço

973 Ao finalizar o período de lactação, 10 filhotes de cada grupo foram escolhidos  
974 ao acaso e sedados para coleta do baço. Foi utilizado o anestésico  
975 hidrocloreto de cetamina (80 mg/kg) e xilazina (6,0 mg/kg) por via  
976 intramuscular. A eutanásia foi realizada com o aprofundamento da anestesia  
977 com Tiopental 40mg/kg por via intraperitoneal (LIMA et al., 2005). O material  
978 coletado (baço) foi fixado em formol a 10% tamponado por 48 horas. Após esse  
979 período, fragmentos foram processados para inclusão em parafina e os cortes  
980 submetidos à técnica de coloração por Hematoxilina-Eosina (HE) para análise  
981 histopatológica e morfométrica sendo observados a microscopia de luz. Para a

982 morfometria foram mensurados 30 (trinta) corpúsculos esplênicos e os seus  
983 centros germinativos da polpa branca de cada animal, para determinação dos  
984 seguintes parâmetros: área ( $\mu\text{m}^2$ ), perímetro ( $\mu\text{m}$ ), diâmetro máximo ( $\mu\text{m}$ ) e  
985 diâmetro mínimo ( $\mu\text{m}$ ). Estas medidas foram realizadas mediante o sistema  
986 analisador de imagens, Gimp 2.0 acoplado a um microscópio Olympus.

987 Para análise histoquímica, alguns cortes histológicos foram submetidos à  
988 metodologia citoquímica para identificação de fibras reticulares, pelo método de  
989 impregnação argêntica (coloração de prata). A quantificação de fibras reticulares  
990 foi realizada sobre as imagens dos preparados histoquímico, obtidas por um  
991 sistema de captura de imagens e analisadas com o auxílio de um sistema  
992 computacional de análise de imagens Gimp 2.0. Foram capturados 10 campos  
993 da região da polpa vermelha do baço em cada animal, na região imediatamente  
994 ao redor da polpa branca. Em cada campo, foram quantificados em pixels o teor  
995 de fibras reticulares.

996

### 997 3.5. Imunohistoquímica

998 Cortes do baço obtidos de material parafinado (5  $\mu\text{m}$ ) de todos os grupos  
999 foram usados para detecção de interleucina pró-inflamatória IL-1 $\beta$ . Inicialmente,  
1000 as secções do órgão foram desparafinadas com xilol e hidratadas com etanol.  
1001 Os cortes foram incubados com os respectivos anticorpos overnight, e  
1002 posteriormente foram incubados com streptavidina-peroxidase, sendo então  
1003 revelados com substrato cromógeno 3,3'diaminobenzidina (DAB) em marrom e  
1004 contra-coradas com Hematoxilina de Harris.

1005

### 1006 3.6. Análise Estatística

1007 Os dados obtidos pela morfometria e imunohistoquímica do baço dos filhotes  
1008 foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, onde as médias  
1009 obtidas foram comparadas pelo teste de Wilcoxon Mann-Whitney ( $p < 0,05$ ).

1010

## 1011 4. RESULTADOS

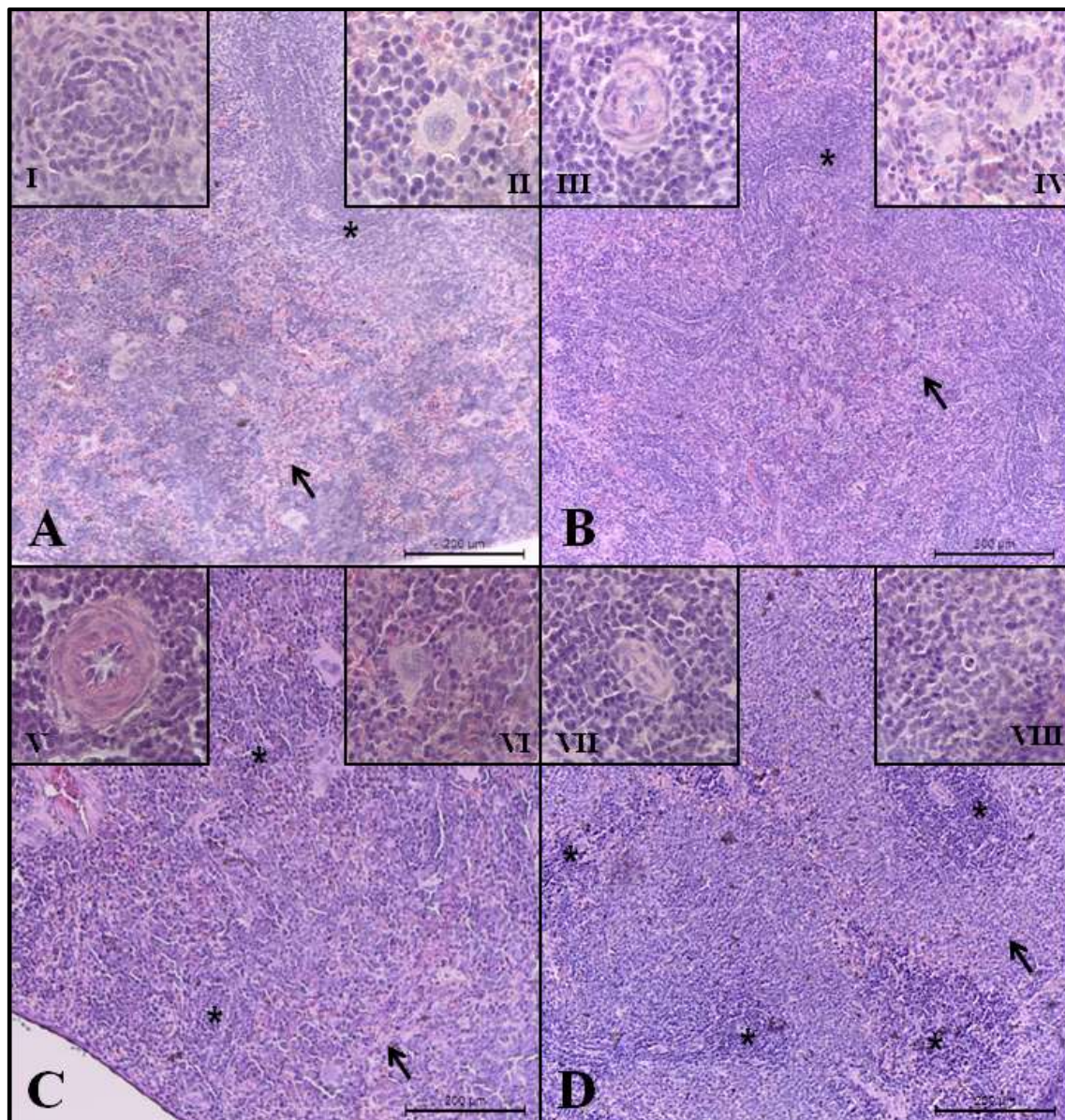
### 1012 4.1. Análise Histopatológica do Baço

1013 O baço dos filhotes do grupo C apresentaram uma polpa vermelha bem  
1014 estabelecida, com megacariócitos de tamanho e desenvolvimento característico  
1015 e evidente (Fig. 1.A.II), enquanto a polpa branca desses animais se apresentou  
1016 pouco desenvolvida e com presença da arteríola central (Fig. 1.A.I), mas sem  
1017 um centro germinativo desenvolvido. A estrutura do baço permanece  
1018 preservada, sem nenhuma alteração (Fig. 1.A). Nos filhotes do grupo C+Mel, o  
1019 tecido linfóide do baço encontra-se mais desenvolvido e ativo em comparação  
1020 ao grupo C, com uma polpa branca visivelmente maior, exibindo uma arteríola  
1021 bem mais definida (Fig. 1.B.III) e uma zona externa maior. Os megacariócitos  
1022 desse grupo se expõe em menor quantidade e com tamanho reduzido em  
1023 relação ao grupo C (Fig. 1.B.IV).

1024 No grupo tratado com dieta hipercalórica (DH) foi observado megacariócitos  
1025 menores do que os observados nos grupos controle (Fig. 1.C.VI). A polpa  
1026 vermelha encontra-se mais evidente, enquanto a polpa branca exibe áreas com  
1027 um menor desenvolvimento da polpa branca em relação aos grupos tratados  
1028 com melatonina (Fig. 1.C). No grupo experimental DH+Mel foi observado que as  
1029 polpas brancas estão completamente desenvolvidas do que nos demais grupos,  
1030 e a presença de centro germinativo e arteríola central (Fig. 1.D.VII). Além de,  
1031 uma hiperestimulação e fusão das polpas brancas caracterizando um sistema  
1032 imunológico completamente ativo (Fig. 1.D). A polpa vermelha se encontra em  
1033 menor tamanho, mas com nítida presença na área mais central. Nota-se,  
1034 também, que os linfócitos presentes na zona do manto estão maiores, exibindo  
1035 uma cromatina mais frouxa, e estes irão se diferenciar em linfócitos do tipo B.

1036

1037



1038

1039

1040

1041

1042

1043

1044

**Figura 1.** Fotomicrografia do baço dos grupos experimentais. A) C – Dieta Padrão; B) C+Mel – Dieta Padrão + Melatonina; C) DH – Dieta Hipercalórica; D) DH+Mel – Dieta Hipercalórica + Melatonina. Apresentando regiões de polpa vermelha (seta), e regiões de polpa branca (asterisco). Nas regiões de destaque: arteríola central (I, III, V, VII) e megacariócitos (II, IV, VI, VIII). Coloração Hematoxilina-Eosina (HE).

1044



## 1045 4.2. Análise Morfométrica do Baço

1046 Os dados obtidos com a morfometria dos corpúsculos esplênicos relevaram  
 1047 um aumento significativo na área e no perímetro do grupo DH em relação ao  
 1048 grupo C e enquanto as médias apuradas pelos diâmetros não apresentaram  
 1049 variação significativa. Entretanto os demais grupos experimentais tratados com  
 1050 melatonina (C+Mel e DH+Mel) não exibiram diferenças estatísticas em nenhum  
 1051 dos parâmetros observados em comparação aos grupos C e DH (Tab. 1).

1052

1053 **Tabela 1.** Média  $\pm$  desvio padrão da área (AR), perímetro (PER), diâmetro máximo (DMX) e  
 1054 diâmetro mínimo (DMN) dos corpúsculos esplênicos do baço dos filhotes com 21 dias.

Grupos	C	C+Mel	DH	DH+Mel	P
<b>AR (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>	643,67 156,63 b	$\pm$ 764,65 $\pm$ 156,03 ab	1238,33 977,84 a	$\pm$ 870,10 $\pm$ 337,05 ab	0,009 0
<b>PER (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	89,92 $\pm$ 12,16 b	97,86 $\pm$ 9,74 ab	119,68 $\pm$ 40,65 a	103,34 $\pm$ 20,96 ab	0,004 7
<b>DMX (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	29,84 $\pm$ 4,73 a	31,50 $\pm$ 4,67 a	39,04 $\pm$ 13,81 a	34,15 $\pm$ 9,07 a	0,080 1
<b>DMN (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	25,65 $\pm$ 4,53 a	27,30 $\pm$ 5,18 a	32,73 $\pm$ 13,29 a	29,13 $\pm$ 7,69 a	0,263 5

1055 Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de  
 1056 Wilcoxon-Mann-Whitney ( $P > 0,05$ ).

1057

1058 Entretanto, a média obtida com a análise da morfometria dos centros  
 1059 germinativos revelou uma variação significativa na área do grupo DH+Mel em  
 1060 relação ao grupo C, enquanto no diâmetro mínimo foram observados um  
 1061 aumento nos grupos C+Mel e DH+Mel em comparação ao grupo C (Tab. 2). Os  
 1062 demais parâmetros não exibiram diferenças significativas.

1063

1064 **Tabela 2.** Média  $\pm$  desvio padrão da área (AR), perímetro (PER), diâmetro máximo (DMX) e  
 1065 diâmetro mínimo (DMN) dos centros germinativos do baço dos filhotes com 21 dias.

Grupos	C	C+Mel	DH	DH+Mel	P
<b>AR (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>	4387,05 1231,46 b	$\pm$ 6083,01 2707,82 ab	$\pm$ 7284,26 $\pm$ 5883,83 ab	6241,90 2408,00 a	$\pm$ 0,0272
<b>PER (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	236,68 $\pm$ 34,60 a	268,75 $\pm$ 63,64 a	287,06 $\pm$ 105,35 a	275,70 $\pm$ 53,85 a	0,0508
<b>DMX (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	81,66 $\pm$ 14,88 a	85,14 $\pm$ 17,79 a	91,79 $\pm$ 40,96 a	100,34 $\pm$ 23,26 a	0,0351
<b>DMN (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	58,15 $\pm$ 9,83 b	72,95 $\pm$ 11,41 a	75,08 $\pm$ 28,91 ab	86,13 $\pm$ 20,86 a	<0.000 1

1066 Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de  
 1067 Wilcoxon-Mann-Whitney ( $P>0,05$ ).

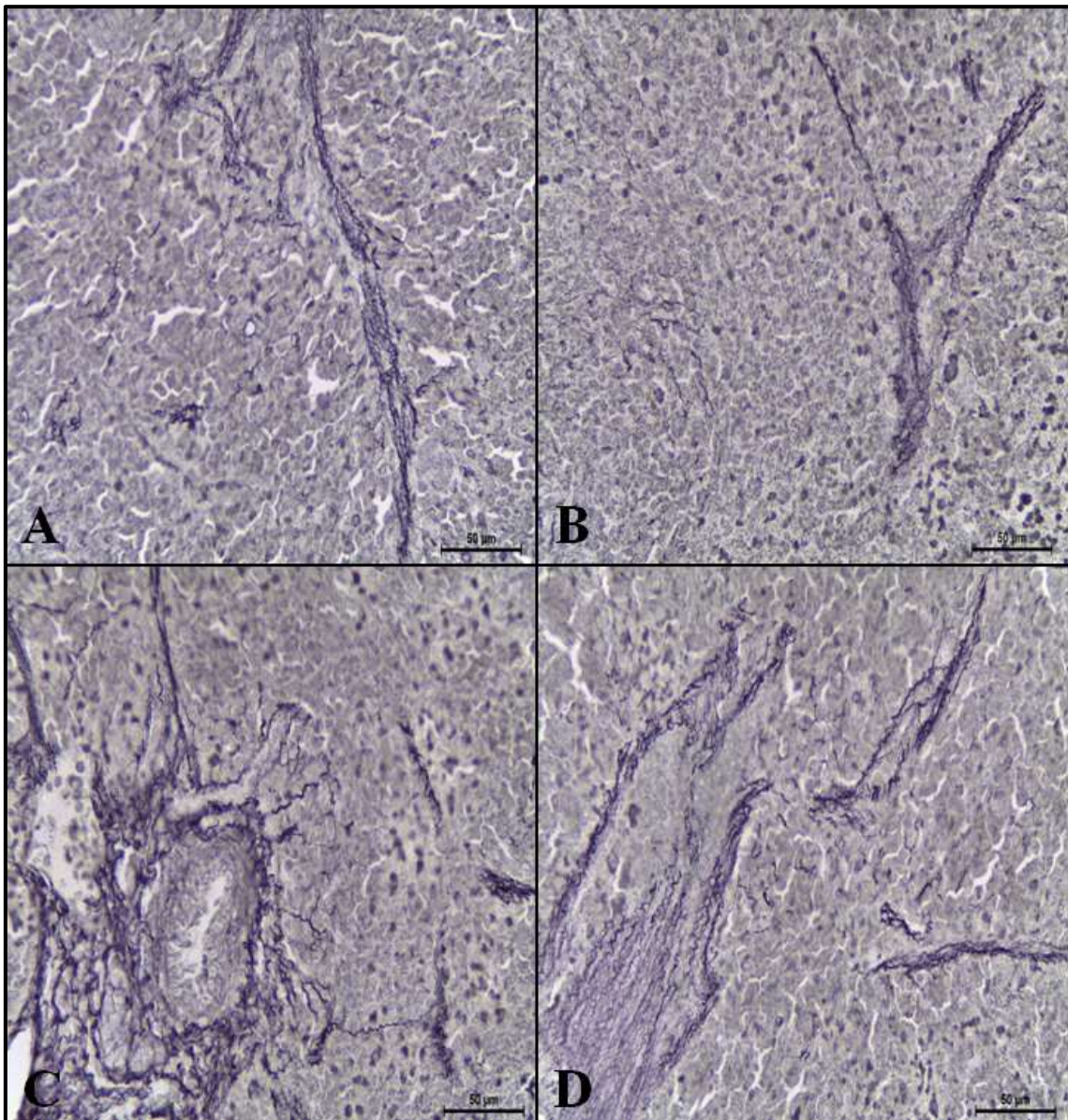
1068

#### 1069 4.3. Análise Histoquímica do Baço

1070 Os dados obtidos por meio da análise da quantificação por coloração de prata  
 1071 relevaram um aumento significativo no percentual de fibras reticulares no grupo  
 1072 tratado com dieta hipercalórica (DH) em comparação com os grupos controle (C  
 1073 e C+Mel) (Fig. 2). Enquanto os grupos C e C+Mel não divergiram entre si, e o  
 1074 grupo DH+Mel não apresentou variação estatística quando comparado aos  
 1075 demais grupos (Graf. 1).

1076

1077



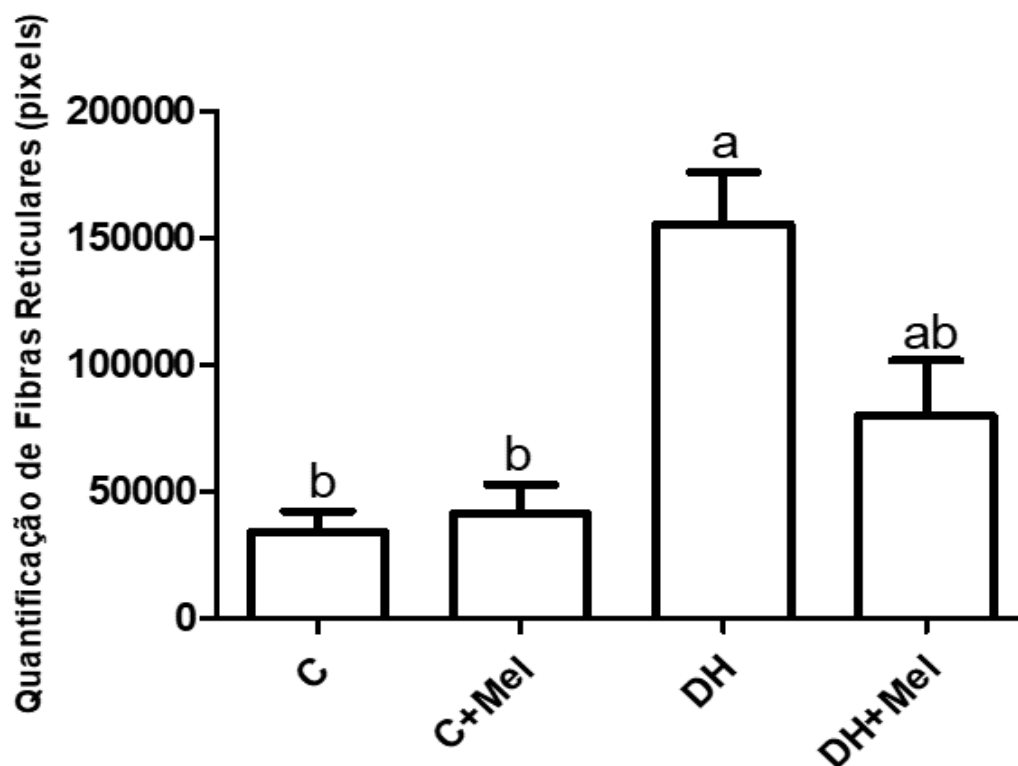
1078

1079 **Figura 2.** Fotomicrografia da histoquímica do baço dos grupos experimentais para a  
1080 quantificação de fibras reticulares. A) C – Dieta Padrão; B) C+Mel – Dieta Padrão + Melatonina;  
1081 C) DH – Dieta Hipercalórica; D) DH+Mel – Dieta Hipercalórica + Melatonina. Coloração por Prata  
1082 (Impregnação Argêntica).

1083

1084

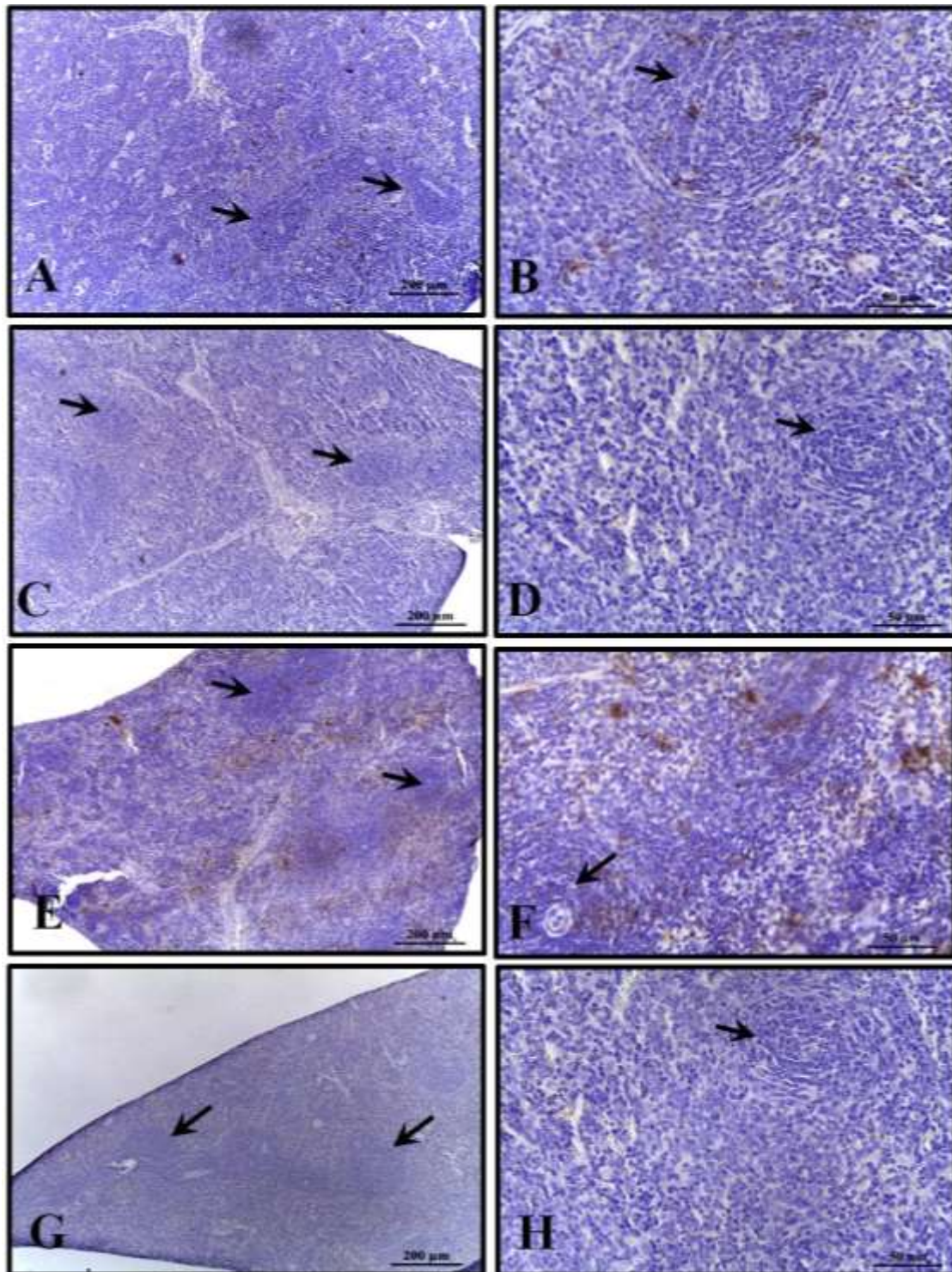
1085 **Gráfico 1.** Média dos valores obtidos a partir da quantificação em pixels das fibras reticulares  
1086 por Impregnação Argêntica no baço dos filhotes das ratas dos grupos experimentais. Médias  
1087 seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Wilcoxon-Mann-  
1088 Whitney ( $P < 0,05$ ).



1089

#### 1090 4.4. Análise Imunohistoquímica do Baço

1091 A análise imunohistoquímica para o IL-1 no baço revelou marcação positiva  
1092 nos animais dos grupos C e DH, em relação aos animais dos grupos tratados  
1093 com melatonina (C + Mel e DH + Mel) (Fig. 3). A quantificação em pixels revelou  
1094 alta expressão dessa citocina nos animais do grupo DH, diferindo  
1095 significativamente dos demais grupos. No grupo controle observou-se moderada  
1096 expressão do IL-1, diferindo dos grupos tratados com melatonina, os quais  
1097 apresentaram fraca expressão, porém sem diferirem entre si (Gráf. 2).



1098

1099

1100

1101

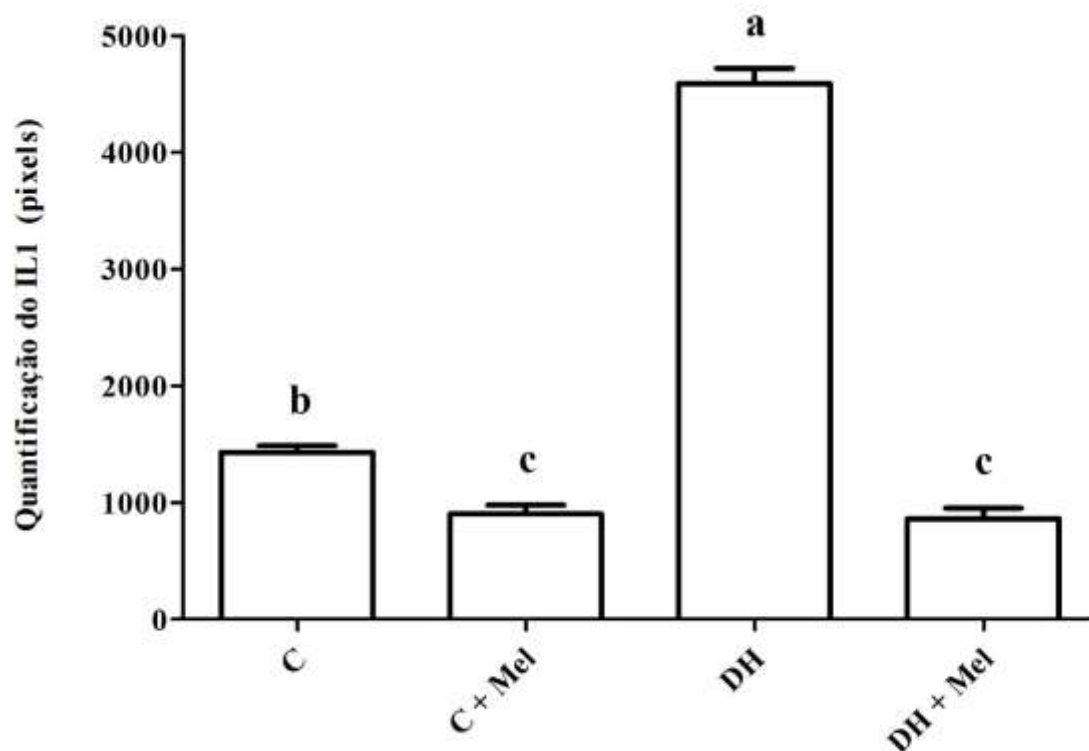
1102

**Figura 3.** Fotomicrografia da imunohistoquímica para o IL-1 no baço dos animais dos grupos experimentais. A-B) C – Dieta Padrão; C-D) C+Mel – Dieta Padrão + Melatonina; E-F) DH – Dieta Hipercalórica; G-H) DH+Mel – Dieta Hipercalórica + Melatonina. Notar marcação positiva apenas nos grupos C e DH na polpa branca (setas) e polpa vermelha.

1103

1104

1105 **Gráfico 2.** Quantificação em pixels do IL-1 no baço dos animais dos grupos experimentais.  
1106 Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de  
1107 Wilcoxon-Mann-Whitney ( $P < 0,05$ ).



1108

## 1109 5. DISCUSSÃO

1110

1111 Os resultados obtidos a partir da análise histopatológica indicaram um  
1112 aumento no desenvolvimento do sistema imune dos ratos tratados com dieta  
1113 hipercalórica associada a melatonina por meio de uma maior estimulação da  
1114 polpa branca quando comparada aos outros grupos. E isto é devido a  
1115 composição da polpa branca do baço apresentar, principalmente, células do tipo  
1116 linfócitos que atuam ativamente no sistema imune (MEBIUS; KRAAL, 2005).  
1117 Assim, segundo Carrillo-Vico et al. (2006) a melatonina seria capaz de aumentar  
1118 a capacidade proliferativa de linfócitos em ratos. E de acordo com Maganhin et  
1119 al. (2008) e Silva (2016), a melatonina parece ser capaz de aumentar a atividade  
1120 e a mobilidade de células de defesa. De modo que a melatonina age diretamente  
1121 nos tecidos imunológicos, principalmente por meio de células T auxiliares com  
1122 receptores MT1A e MT1B para modular a função imune (YOO et al. 2016).

1123 Assim, os resultados obtidos pela morfometria dos corpúsculos esplênicos  
1124 confirmam os achados da histopatologia em que houve uma maior marcação do  
1125 sistema imune e a presença de linfócitos em ambos os grupos tratados com  
1126 melatonina e, também, no grupo DH. Uma vez sabendo que a composição dos  
1127 corpúsculos esplênicos em maioria se dá por linfócitos do tipo B. E ainda  
1128 segundo Girardi (2014), os centros germinativos seriam compostos por linfócitos  
1129 maduros, e outras células envolvidas no sistema imune, de modo que o resultado  
1130 obtido com a morfometria mostrou um aumento na área no grupo DH+Mel em  
1131 relação ao controle, contribuindo, então, com os resultados previamente obtidos  
1132 e confirmando uma maior marcação do sistema imunológico.

1133 De acordo com Mebius et al (2005), os cordões da polpa vermelha são  
1134 compostos em grande parte por fibras reticulares e fibroblastos, de modo, a  
1135 formarem juntos um sistema sanguíneo aberto sem forro endotelial. Então, a  
1136 partir dos resultados obtidos com a histoquímica das fibras reticulares foi  
1137 observado um aumento significativo no percentual destas no grupo DH,  
1138 corroborando com a histopatologia, em que a polpa vermelha foi encontrada em  
1139 maior evidencia do que nos demais grupos experimentais. Outrossim, segundo  
1140 Araújo et al. (2013) em ratas pinealectomizadas não houve variações  
1141 significativas no percentual de fibras reticulares, no entanto, em nosso trabalho  
1142 ocorreu um aumento de fibras reticulares nos grupos submetidos a dieta  
1143 hipercalórica, ao mesmo tempo que o grupo DH+Mel não variou  
1144 significativamente no grupo controle, o que possivelmente significa que a  
1145 melatonina atuou de forma preventiva ou protetora sobre a síntese das fibras  
1146 reticulares. De acordo com Hatipoglu et al. (2007) e Hu et al. (2016) isto seria  
1147 motivado pela sua ação antiproliferativa em todas as fases da fibrose e pela  
1148 redução na proliferação dos fibroblastos. De modo que a habilidade da  
1149 melatonina em diminuir a fibrose pode estar correlacionada com capacidade de  
1150 inibir o estresse oxidativo e a sinalização inflamatória.

1151 O aumento significativo na expressão da citocina IL-1 $\beta$  do grupo submetido  
1152 a dieta hipercalórica pode ser explicado pelo processo inflamatório associado a  
1153 ingestão de dietas ricas em gorduras e a obesidade, corroborando com trabalhos  
1154 de Montes (2013). Dessa forma, se sabe que a IL-1 está diretamente relacionada  
1155 com o aumento da TNF- $\alpha$ , e de modo que juntas estimulam a síntese de IL-6

1156 (VOLP, 2008). Essa relação entre as citocinas pró-inflamatórias também pode  
1157 ser associada a fibrogênese observada no grupo DH, pois de acordo com Silva  
1158 (2016) durante esse processo a IL-6 e TNF- $\alpha$  estão atuando como promotores  
1159 desse encadeamento.

1160 Enquanto a redução para a quantificação da IL-1 nos grupos tratados com  
1161 melatonina em relação ao grupo controle e ao grupo DH pode ser explicada pela  
1162 capacidade inibidora de citocinas pró-inflamatórias pela melatonina,  
1163 corroborando com Tresguerres et al. (2012) em que a melatonina foi capaz de  
1164 reduzir os níveis de IL-1 em modelos com ratos idosos. De acordo com  
1165 Chahbouni et al. (2010) a melatonina foi eficiente em diminuir a inflamação e  
1166 inibir a transcrição da citocina IL-1 a níveis abaixo do observado no grupo  
1167 controle, sendo este resultado verificado também em nosso trabalho a partir da  
1168 análise imunohistoquímica. Da mesma forma que a melatonina foi capaz de  
1169 reduzir os níveis de IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IL-6 em altos, médios e baixos graus de  
1170 inflamação, além de regular positivamente a expressão de IL-10 (KIREEV et al.  
1171 2008; HARDELAND, 2018).

1172

## 1173 **6. CONCLUSÃO**

1174

1175 Assim, podemos concluir que a melatonina apresenta um grande potencial  
1176 em impulsionar a atividade imune e reduzir citocinas pró-inflamatórias no baço,  
1177 de modo a prevenir os efeitos prejudiciais de uma dieta hipercalórica sob a prole  
1178 de ratas submetidas a ingesta durante toda a gestação e lactação. A partir disto,  
1179 é possível ressaltar que tais resultados se mostram de extrema significância para  
1180 possíveis estudos que possibilitem a utilização da melatonina em tratamento  
1181 coadjuvante ou preventivo de possíveis efeitos maléficos oportunizados pela  
1182 dieta hipercalórica.

## 1183 **7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1184

1185 ALTUNKAYNAK, B. Z.; et al. A stereological and histological analysis of spleen  
1186 on obese female rats, fed with high fat diet. **Saudi Med J**, v. 28, n. 3, p. 353-  
1187 357, 2007.



- 1188 ANGULO, P. Nonalcoholic fatty liver disease. **N Engl J Med**, v. 346, p. 1221-  
1189 1231, 2002.
- 1190 ARAÚJO, A. C. C.; et al. Ação da melatonina sobre a dinâmica sanguínea de  
1191 ratas prenhes e sobre a histogênese do baço e do timo da prole. **Arq. Bras. Med.**  
1192 **Vet. Zootec.**, v.65, n.2, p.404-414, 2013.
- 1193 BALESTIERI, F. M. P. Imunologia. São Paulo, **Manole**, p. 3-21, 2006.
- 1194 BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M. DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação  
1195 entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quim. Nova**, v. 29,  
1196 n. 1, p. 113-123, 2006.
- 1197 BOO, H.A.; HARDING, J.E. The developmental origins of adult disease (Barker)  
1198 hypothesis. **Aust N Z J Obstet Gynaecol.** v. 46, p. 4-14, 2006.
- 1199 CARRILO-VICO, A.; et al. Expression of melatonin a growth factors mRNA in the  
1200 rat placenta during mid-late pregnancy. **J Veterinary Sci**, v. 6, p. 179-183, 2005.
- 1201 CATALANO, P.M.; EHRENBERG, H.M. The short- and long-term implications of  
1202 maternal obesity on the mother and her offspring. **BJOG An Int J Obstet**  
1203 **Gynaecol.** v. 113, n. 10, p. 1126-1133, 2006.
- 1204 CHAHBOUNI, M.; et al. Melatonin treatment normalizes plasma pro-inflammatory  
1205 cytokines and nitrosative/oxidative stress in patients suffering from Duchenne  
1206 muscular dystrophy. **Journal of Pineal Research**, v. 48, p. 282-289, 2010.
- 1207 ESTADELLA, D. Efeitos da dieta de cafeteria e de ciclos alternados de dieta  
1208 padrão com dieta de cafeteria sobre o metabolismo de ratos sedentários ou  
1209 exercitados. **Dissertação de Mestrado apresentada ao Departamento de**  
1210 **Nutrição da Escola Paulista de Medicina**, Universidade Federal de São Paulo,  
1211 São Paulo, 2001.
- 1212 FLEGAL, K.M.; et al. Prevalence of obesity and trends in the distribution of body  
1213 mass index among US adults, 1999- 2010. **JAMA** v. 307, p. 491-497, 2012.
- 1214 GUIMARÃES-ROSA, N. K.; et al. Produção aumentada de superóxido e fibrose  
1215 renal: novo modelo animal. **Einstein**, v. 13, n.1, 2015.
- 1216 HAMAGUCHI, M.; et al. The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic  
1217 fatty liver disease. **Ann Intern Med**, v. 143, p. 722-728, 2005.
- 1218 HARDELAND, R. Melatonin and inflammation-Story of a double-edged blade. **J**  
1219 **Pineal Res**, v. 65, n. 4, p. e12525, 2018.
- 1220 HATIPOGLU, A.; TURKYILMAZ, Z.; MERT, S. The effects of melatonin on  
1221 postoperative intraabdominal adhesion formation. **Yonsei Med J**, v. 48, p. 659–  
1222 664, 2007.
- 1223 HU, W.; et al. Melatonin: the dawning of a treatment for fibrosis? **J. Pineal Res.**,  
1224 v. 60, p. 121-131, 2016.
- 1225 IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Pesquisa  
1226 Nacional de Saúde (PNS) - 2013. Rio de Janeiro, 2014.

- 1227 IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. IBGE dá  
1228 início à Pesquisa Nacional de Saúde (PNS) 2019. Disponível em <  
1229 <https://www.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 29 de out. 2019.
- 1230 KELLY, T.; et al. Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. **Int J**  
1231 **Obes.** v. 32, p. 1431 – 1437, 2008.
- 1232 KIM, Y. S.; et al. Melatonin protects 6-OHDA- induced neuronal death of  
1233 nigrostriatal dopaminergic system. **Neuroreport**, v. 9, n. 10, p. 2387-2390, 1998.
- 1234 KIREEV, R. A; et al. Melatonin is able to prevent the liver of old castrated female  
1235 rats from oxidative and pro-inflammatory damage. **J Pineal Res**, v. 45, p. 394-  
1236 402, 2008.
- 1237 LEDDY, M. A.; POWER, M. L.; SCHULKIN. J. The impact of maternal obesity on  
1238 maternal and fetal health. **Rev Obstet Gynecol.** v, 1, n. 4, p. 170-178, 2008.
- 1239 LIMA, E.; et al. Effects of pinealectomy and the treatment with melatonin on the  
1240 temporal lobe epilepsy in rats. **Brain Res.** v. 1043, p. 24-31, 2005.
- 1241 MAGANHIN, C. C.; et al. Melatonin effects on the female genital system: a brief  
1242 review. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v. 54, n.3, p. 267-271, 2008.
- 1243 MAHANY, E. B.; et al. Obesity and High-Fat Diet Induce Distinct Changes in  
1244 Placental Gene Expression and Pregnancy Outcome. **Endocrinology**, v. 159, n.  
1245 4, p. 1718-1733, 2018.
- 1246 MEBIUS, R. E.; KRAAL, G. Structure and Function of The Spleen. **Nature**  
1247 **Publishing Group**, v. 5, p. 606-616, 2005.
- 1248 MONTES, E. G. O Efeito da Esplenectomia sobre a Obesidade Induzida por  
1249 Glutamato Monossódico (MSG). 2013. **Dissertação (Mestrado em Biologia**  
1250 **Evolutiva) – Universidade Estadual de Ponta Grossa**, Ponta Grossa.
- 1251 MOURALIDARANE, A.; et al. Maternal obesity programs offspring non-alcoholic  
1252 fatty liver disease through disruption of 24-h rhythms in mice. **Int J Obes.** v. 39,  
1253 n. 9, p. 1339-1348, 2015.
- 1254 MOURALIDARANE, A.; et al. Maternal obesity programs offspring nonalcoholic  
1255 fatty liver disease by innate immune dysfunction in mice. **Hepatology.** v. 58, n.  
1256 1, p. 128-138, 2013.
- 1257 OKEN, E.; GILLMAN, M.W. Fetal origins of obesity. **Obes Res**, v. 11, p. 496–  
1258 506, 2003.
- 1259 POSSIGNOLO, L.F. Effect of high fat diet chronic ingestion on the metabolism of  
1260 female rats, and on the sr-bi and abca1 expression in the placenta, small  
1261 intestine, liver and kidney of the offspring. **Dissertação de Mestrado**, p. 176,  
1262 2012.
- 1263 QIN J.; et al. Study on the characteristics of inheritance and epidemiology in one  
1264 pedigree with gallstone disease. **Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi**, v. 26, p  
1265 448-450, 2005.

- 1266 REITER, R. J.; et al. Melatonin as an antioxidant: under promises but over  
1267 delivers. **J Pineal Res**, v. 61, n. 3, p. 253-78, 2016.
- 1268 REITER, R. J.; et al. Obesity and metabolic syndrome: Association with  
1269 chronodisruption, sleep deprivation, and melatonin suppression. **Ann Med.** v. 44,  
1270 n. 6, p. 564-577, 2012.
- 1271 REITER, R. J.; et al. Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanisms and  
1272 pathophysiological implications in humans. **Acta Biochim Pol**, v. 50, n. 4, p.  
1273 1129-46, 2003
- 1274 SHIMOZUMA, M.; et al. Expression and cellular localizaion of melatonin-  
1275 synthesizing enzymes in rat and human salivary glands. **Histochem Cell Biol**, v.  
1276 135, n. 4, p. 389-96, 2011.
- 1277 SILVA, S. B. Influência da melatonina exógena sobre parâmetros sanguíneos,  
1278 hormonais, metabólicos e inflamatórios em ratas alimentadas com dieta  
1279 hipercalórica durante a prenhez. Recife, 2016. **Tese (Doutorado em Biociência**  
1280 **Animal) - Universidade Federal Rural de Pernambuco**, Recife.
- 1281 SINGH, M.; JADHAV, H. R. Melatonin: Functions and ligands. **Drug Discov**  
1282 **Today**. v. 19, n. 9, p. 1410-1418, 2014.
- 1283 TRESGUERRES, A. F.; et al. Effect of Chronic Melatonin Administration on  
1284 Several Physiological Parameters from Old Wistar Rats and Samp8 Mice.  
1285 **Current Aging Science**, v. 5, n. 3, p. 242-253(12), 2012.
- 1286 TRUFAKIN, V. A.; et al. Effect of Melatonin on Cellular Composition of the Spleen  
1287 and Parameters of Lipid Metabolism in Rats with Alimentary Obesity. **B Exp Biol**  
1288 **Med**, v. 158, n. 1, p. 49-52, 2014.
- 1289 VISHWAS, D. K.; HALDAR, C. Photoperiodic induced melatonin regulates  
1290 immunity and expression pattern of melatonin receptor MT1 in spleen and bone  
1291 marrow mononuclear cells of male golden hamster. **J Photoch Photobio B.**, v.  
1292 128, p.107–114, 2013.
- 1293 WANG, Y.; et al. Will all Americans become overweight or obese? Estimating the  
1294 progression and cost of the US obesity epidemic. **Obesity**, v. 16, p. 2323 – 2330,  
1295 2008.
- 1296 WHO. Obesity: Preventing And Managing The Global Epidemic, **Report of a**  
1297 2000.
- 1298 WHO. Obesity and overweight, 2018. Disponível em < <https://www.who.int/>>.  
1299 Acesso em: 23 de jul. 2018.
- 1300 VOLP, A. C. P.; et al. Capacidade dos biomarcadores inflamatórios em predizer  
1301 a síndrome metabólica: Inflammation biomarkers capacity in predicting the  
1302 metabolic syndrome. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 52, n. 3, p. 537-549, 2008.
- 1303 YONEI, Y.; et al. Effects of melatonin: basic studies and clinical applications.  
1304 **Anti-Ageing Med.** v. 7, p. 85–91. 2010.

1305 YOO, Y. M.; et al. Pharmacological advantages of melatonin in  
1306 immunosenescence by improving activity of T lymphocytes. **J Biomed Res**, v.  
1307 30, n. 4, p. 314-21, 2016.