

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO**

**O RESVERATROL E A MELATONINA NO PROCESSO REPRODUTIVO
FEMININO**

Lorena da Rosa Brandão

CAMPO GRANDE, MS
2019

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO**

**O RESVERATROL E A MELATONINA NO PROCESSO REPRODUTIVO
FEMININO**

The resveratrol and melatonin in the female reproductive process

**Lorena da Rosa Brandão
Orientadora: Dr^a Maria Inês Lenz Souza**

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Doutora em Ciência Animal.
Área de concentração: Produção Animal.

CAMPO GRANDE, MS
2019

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre me acompanhar e mostrar os melhores caminhos a seguir;

Ao meu pai Jorge, exemplo profissional e humano, alicerce da minha vida.

Aos meus irmãos pelos momentos de alegria;

Ao meu esposo e amigo, Ângelo, pelo amor, dedicação, paciência e por me incentivar e apoiar incondicionalmente no decorrer dos meus estudos;

A minha orientadora Professora Dra. Maria Inês Lenz Souza, pelo carinho, suporte, confiança, incentivo, pela amizade e pelos ensinamentos transmitidos durante todos esses anos; sem sombra de dúvidas, um exemplo de tutora, quase uma mãe;

A minha amiga e colega de curso, Adriana Guercio, sem ela este projeto não se realizaria, a qual nos momentos mais difíceis nunca mediu esforços para me apoiar.

Ao Prof. Albert Schiaveto de Souza, pela paciência, dedicação, análise e orientação; enfim, pela ajuda imprescindível que engrandeceu este trabalho;

A todos os funcionários, chefes e colaboradores do Biotério Central da UFMS, pelo apoio, aprendizado e pelo fornecimento dos animais e dos materiais necessários à execução deste projeto;

Agradeço à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, especialmente ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, pela oportunidade de realização do Curso de Doutorado. A todos os professores e funcionários, pela dedicação diária a esta Instituição que tanto prezamos.

“Não há nada que você não possa fazer. No final do dia, depende de você e da persistência do seu coração, pois a ferramenta mais importante para solucionar os grandes desafios é a paixão e a persistência da mente humana.”

Peter Diamandis

Resumo

ROSA, L.S. O resveratrol e a melatonina no processo reprodutivo feminino. 2019. 130f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2019.

Buscou-se determinar a influência da suplementação com melatonina 5 mg (MT5) e resveratrol 10 mg (RV10) em fêmeas de camundongos SWISS, na liberação de citocinas (IL-6, -10, -12, IFN- γ , MCP-1 e TNF- α) e no ganho de peso médio semanal, como na sua prolificidade, através da mensuração do número e sexo de filhotes nascidos, peso ao nascimento, desmame e 60 dias de idade. Utilizou-se 15 fêmeas com 40 dias de idade, as quais receberam os antioxidantes (MT5, RV10) ou solução salina (C) por meio de gavagem até 84 dias de idade. A colheita de sangue das fêmeas F0 para obtenção de soro e mensuração de citocinas foi realizada aos 40 e 84 dias de idade (momento pré e pós suplementação). As fêmeas F0 foram pesadas individualmente para mensuração do ganho de peso médio semanal. O TNF- α mostrou-se mais elevado no grupo C em relação ao grupo tratado com RV10. A suplementação das fêmeas com MT5 ou RV10 não resultou em modificações no ganho de peso médio semanal das mães, número e sexo dos filhotes nascidos. O peso dos filhotes, avaliado ao nascimento, desmame e 60 dias de idade, mostrou-se maior no primeiro momento no grupo tratado com MT5, mas esta diferença não se manteve nos demais momentos avaliados. Ainda, buscou-se determinar se o consumo materno de resveratrol e melatonina por fêmeas de camundongo SWISS, influencia nos níveis de colesterol total, lipoproteínas de alta densidade (HDL) e triglicérides na prole feminina (F1), na taxa de gestação e no número e taxa de implantações embrionárias dessas fêmeas. Considerou-se, para este experimento, fêmeas (F1) descendentes de fêmeas F0 suplementadas com resveratrol (5 ou 10 mg) ou melatonina (5 ou 10 mg), ou controle (C), dos 40 aos 84 dias de idade, por meio de gavagem. As fêmeas F1 foram acasaladas aos 60 dias de idade e, oito dias após confirmação da gestação, foram eutanasiadas para coleta de materiais biológicos (soro para mensuração de colesterol total, triglicérides e HDL; ovários e útero para contagem do número de corpos lúteos e sítios de implantação, respectivamente), e posterior cálculo das taxas de gestação e implantação embrionária. As concentrações séricas de colesterol total foram maiores nas fêmeas F1 do grupo RV10, porém não diferiram do grupo C nem do grupo tratado com RV5. As fêmeas F1 do grupo RV10 apresentaram maiores níveis séricos de triglicérides, porém sem diferir dos grupos MT5 e MT10. Já as concentrações séricas de HDL variaram entre grupos, porém sem permitir a definição exata desta diferença ao comparar-se os grupos entre si com testes de média. Na avaliação dos cortes histológicos de útero das fêmeas F1, verificou-se número de implantações embrionárias similares entre os grupos. Ao calcular-se as taxas de gestação e de implantação, verificou-se que as fêmeas F1 filhas de mães suplementadas com antioxidantes alcançaram melhores resultados de taxas de gestação e de implantação, em relação ao grupo controle. Conclui-se que a suplementação materna com resveratrol e melatonina contribui para o sucesso reprodutivo de fêmeas de camundongos.

Palavras-chave: antioxidantes, camundongos, fêmeas, programação fetal, prole, reprodução

Abstract

ROSA, L.S. The resveratrol and melatonin in the female reproductive process. 2019. 130f. Thesis (Doctorate) - Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, State University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2019.

We aimed to determine the influence of supplementation with melatonin 5 mg (MT5) and resveratrol 10 mg (RV10) in SWISS mice, in release of cytokines (IL-6, -10, -12, IFN- γ , MCP-1 e TNF- α) and average weekly weight gain of these females and her prolificacy by measuring the number of birth and sex of the offspring and the weight of their babies at birth, weaning and 60 days of age. Fifteen females of 40-day-old SWISS mice were used, which received the antioxidants (MT5, RV10) or saline solution (C) through gavage up to 84 days of age. The collection of blood from F0 females to obtain serum and cytokine measurement was performed at 40 days of age and after weaning. F0 females were individually weighed to measure the mean weekly weight gain. The tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) was shown to be higher in the C group compared to the group treated with resveratrol 10 mg (RV10). Supplementation of females with MT5 and RV10 did not result in changes in average weekly weight gain of mothers, number of birth and sex of offspring. The weight of the offspring, evaluated at birth, weaning and 60 days of age, was higher at the first moment in the group treated with MT5, but this difference was not maintained at the other evaluated moments. Furthermore, the objective of this study was to determine whether the maternal consumption of RV and MT by SWISS mice influenced the levels of total cholesterol, high density lipoprotein (HDL) and triglycerides in the female offspring (F1), pregnancy rate, number and rate of embryonic implantation of these females. We used for this experiment, females (F1) descended from F0 females supplemented with resveratrol (5 or 10 mg) or melatonin (5 or 10 mg), or control (C), from 40 to 84 days of age, through gavage. F1 females were mated at 60 days of age and, eight days after confirmation of gestation, were euthanized to collect biological materials - serum for measurement of total cholesterol, triglycerides and HDL; ovaries and uterus-count of the number of corpora lutea and implantation sites, respectively, and subsequent calculation of gestation rate and embryo implantation. The serum concentrations of total cholesterol were higher in the females F1 of the RV10, but did not differ from the C group or from the group treated with RV5. The F1 females of RV10 group had higher serum triglyceride levels, but no differ from the MT5 and MT10 groups. Serum HDL levels varied between groups, but without allowing the exact definition of this difference when comparing the groups with the mean tests. In the evaluation of histological sections of the uterus of F1 females, the number of similar embryonic implantations was found between the groups. When calculating pregnancy and implantation rates, it was verified that female F1 daughters of mothers supplemented with antioxidants achieved better results of gestation and implantation rates, in relation to the C group. We conclude that maternal

supplementation with resveratrol and melatonin contributes to the reproductive success of female mice.

Keywords: antioxidants, mice, females, fetal programming, offspring, reproduction

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Estrutura química do <i>trans</i> - e <i>cis</i> -Resveratrol.....	24
Figura 2 Estrutura química da melatonina.....	29
CAPÍTULO 1 – Suplementação de fêmeas de camundongos SWISS com resveratrol ou melatonina sobre a liberação de citocinas e desempenho reprodutivo	
Figura 1 Cronograma dos principais eventos que compuseram o delineamento experimental do presente estudo com fêmeas de camundongos SWISS suplementadas com resveratrol e melatonina, desde o início da vida reprodutiva até o final da primeira gestação.....	94
CAPÍTULO 2 – Desempenho reprodutivo e perfil lipídico das filhas geradas de fêmeas de camundongos SWISS suplementadas com resveratrol ou melatonina	
Figura 1 Cronograma dos principais eventos que compuseram o delineamento experimental do do presente estudo, com fêmeas de camundongos SWISS (F0) suplementadas com resveratrol e melatonina, desde o início da vida reprodutiva até ao final da primeira gestação e avaliação das fêmeas (F1) delas geradas.....	129

LISTA DE TABELAS

Página

CAPÍTULO 1 – Suplementação de fêmeas de camundongos SWISS com resveratrol ou melatonina sobre a liberação de citocinas e desempenho reprodutivo

Tabela 1 Concentrações de citocinas (pg/mL) – interleucinas (IL-6, -10, -12) interferon (IFN- γ), proteína quimioatrativa de monócitos (MCP-1) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) – em fêmeas (F0) de camundongos SWISS, tratadas com resveratrol e melatonina..... 95

Tabela 2 Valores médios do peso dos filhotes (g) ao nascimento, desmame e 60 dias de idade dos grupos, nascidos de fêmeas de camundongos SWISS tratadas com resveratrol e melatonina..... 96

Tabela 3 Número de filhotes e sexo das ninhadas de fêmeas de camundongos SWISS tratadas com resveratrol e melatonina..... 96

CAPÍTULO 2 – Desempenho reprodutivo e perfil lipídico das filhas geradas de fêmeas de camundongos SWISS suplementadas com resveratrol ou melatonina

Tabela 1 Níveis de colesterol total (mg/dL), triglicérides (mg/dL) e lipoproteínas de alta densidade (HDL; mg/dL) nas fêmeas de camundongos SWISS F1 descendentes de fêmeas (F0) suplementadas com resveratrol ou melatonina..... 130

Tabela 2 Número de implantações embrionárias (%), taxas de gestação (%) e de implantação embrionária (%) nas fêmeas de camundongos SWISS F1 descendentes de fêmeas (F0) suplementadas com resveratrol ou melatonina..... 130

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. OBJETIVOS.....	13
2.1 Objetivo Geral.....	13
2.2 Objetivos Específicos.....	13
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
3.1 Sistema imune e citocinas.....	14
3.2 Resveratrol.....	24
3.3 Melatonina.....	28
3.4 Perfil lipídico na reprodução das fêmeas.....	33
3.5 Programação fetal.....	38
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
CAPÍTULO 1 – Suplementação materna com resveratrol ou melatonina sobre os níveis de citocinas e desempenho da prole de camundongos SWISS.....	
Resumo.....	70
Introdução.....	72
Materiais e Métodos.....	73
Resultados e Discussão.....	75
Referências.....	78
CAPÍTULO 2 – Desempenho reprodutivo e perfil lipídico das filhas geradas de fêmeas de camundongos SWISS suplementadas com resveratrol ou melatonina.....	
Resumo.....	97
Introdução.....	99
Materiais e Métodos.....	100
Resultados e Discussão.....	103
Referências.....	107

1. INTRODUÇÃO

A fertilidade feminina é altamente dependente da regulação do metabolismo energético, pois a reprodução é um processo que requer um grande investimento metabólico, devido à demanda energética necessária ao organismo durante o período de gestação e lactação (FONTANA E DELLA TORRE, 2016). A regulação do eixo reprodutivo feminino pode ser influenciada pelo metabolismo celular e corporal, através da interação entre hormônios e sinalizadores neurais específicos do hipotálamo, os quais afetam a quantidade e o tipo de substrato metabólico disponível para os órgãos periféricos, inclusive para o ovário (DELLA TORRE et al., 2014). Para que a reprodução seja bem-sucedida, se faz necessária a liberação e fertilização do oócito e subsequente implantação e desenvolvimento embrionário e fetal; porém, estes processos requerem o crescimento coordenado e a maturação gradual do oócito junto com o folículo ovariano, além de consumirem grande quantidade de energia e necessitarem da geração adequada de adenosina trifosfato (ATP), a partir das reservas energéticas celulares (DUNNING et al., 2014).

A interação entre a fisiologia reprodutiva da fêmea e o eixo hipotálamo-hipófise-gônadas possibilita desenvolvimento folicular, maturação oocitária, acasalamento, ovulação, fertilização, formação do corpo lúteo (CL), gestação, parto e puerpério (FINDLAY et al., 2009). Em contrapartida, o sistema imune fornece tanto proteção contra patógenos, quanto a geração de barreiras imunes regulatórias que modulam o processo de reconhecimento materno da gestação (MITCHELL et al., 2002; SHECHTER et al. 2013). As citocinas desempenham várias funções biológicas, tais como influenciar atividade, diferenciação, proliferação e sobrevivência das células imunes, e regular a produção e atividade de outras citocinas, podendo aumentar ou atenuar a resposta inflamatória (OLIVEIRA et al., 2011).

Inúmeros compostos apresentam propriedades benéficas à saúde; dentre estes se destacam o resveratrol (3,5,4'-trihidroxiestilbeno), que é considerado o composto fenólico de maior eficácia biológica (FRÉMONT, 2000), com propriedades anti-inflamatórias (OLIVEIRA et al., 2017),

antioxidantes (TRUONG et al., 2017) e anticarcinogênicas (FARZAEI et al., 2016) e, conseqüentemente, a capacidade de mimetizar os efeitos de restrição calórica, contribuindo para reduzir as doenças metabólicas (PARK et al., 2012), incluindo efeitos cardioprotetores, antiobesogênicos (MARTEL et al., 2017), antiateroscleróticos (FAN et al., 2008) e antidiabéticos (ZHU et al., 2017). Ainda, possui eficácia comprovada sobre o metabolismo da fêmea e de seus descendentes, sendo amplamente pesquisado em diversos estudos (PERVAIZ, 2001; BOOCOOCK et al., 2007; SARKAR et al., 2009; LI et al., 2010).

A melatonina é a principal reguladora da função reprodutiva em animais fotoperiódicos sazonais (REVEL et al., 2009), exercendo efeito inibitório em espécies de dias longos, como hamsters e equinos, ou efeito estimulatório em espécies de dias curtos, como ovinos, caprinos e veados (ANISIMOV, 2003; TEIXEIRA et al., 2004; BERGER, 2008). Durante a gestação, a melatonina materna atravessa livremente as barreiras fisiológicas, incluindo a placenta (OKATANI et al., 1998; RICHTER et al., 2009), e entra facilmente na circulação fetal, atingindo seus níveis máximos e, imediatamente após o parto, retorna aos níveis basais, desempenhando um papel primordial nesses períodos, agindo como antioxidante e fornecendo informações fotoperiódicas ao feto (TAMURA et al., 2008; REITER et al., 2009).

Pesquisas demonstram que os lipídios representam uma importante fonte de energia para a maturação do oócito e para o início do desenvolvimento embrionário, especialmente em animais de produção (STURMEY et al., 2009; MCKEEGAN E STURMEY, 2011; LEESE, 2012). A qualidade do oócito e a capacidade de desenvolvimento do embrião estão altamente relacionadas com a dinâmica das gotículas lipídicas; desta forma, os mecanismos moleculares que regulam o armazenamento lipídico podem ser ferramentas terapêuticas essenciais contra os distúrbios metabólicos relacionados à subfertilidade e à infertilidade (PRATES et al., 2014).

O termo programação fetal refere-se a qualquer estímulo nutricional ou estresse durante o desenvolvimento intrauterino, que resultam em respostas adaptativas do feto, as quais podem gerar conseqüências anatômicas, metabólicas e fisiológicas permanentes (GODFREY, 2002; SUGDEN E HOLNESS, 2002; CHANG et al., 2008; EVANS et al., 2016). Dados experimentais em humanos e animais de laboratório indicam que distúrbios

reprodutivos são influenciados por fatores intrauterinos e exposições pós-natais precoces, demonstrando que a saúde reprodutiva dos animais, na vida adulta, pode ser afetada por influências ambientais que atuam em distintos estágios de desenvolvimento embrionário, e são mediados por alterações no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (DAVIES E NORMAN, 2002).

A nutrição é um dos principais fatores ambientais envolvidos na programação fetal nos diversos estágios de desenvolvimento, tanto em humanos quanto em outras espécies animais, evidenciando que a mesma desempenha um papel fundamental na programação da capacidade reprodutiva da prole.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Estudar os efeitos do consumo de resveratrol e melatonina sobre a prolificidade de fêmeas de camundongos SWISS suplementadas e possíveis implicações na capacidade reprodutiva de sua prole feminina (F1).

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar a eficiência reprodutiva de fêmeas F0, suplementadas com resveratrol e melatonina, pelo acompanhamento do ganho médio semanal de peso dessas fêmeas, número de filhotes nascidos, sexo dos filhotes e do ganho de peso da prole gerada.
- Quantificar as citocinas interleucinas (IL-6,-10 e -12), fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interferon gama (IFN- γ) e proteína quimiotática de monócitos – 1 (MCP-1) em amostras sanguíneas das fêmeas F0.
- Quantificar o perfil lipídico (colesterol total, triglicerídios, HDL- high density lipoproteins) no soro da prole feminina (F1).
- Avaliar a capacidade reprodutiva das fêmeas F1 em idade fértil e submetidas ao acasalamento natural, por meio da mensuração da taxa de gestação e do número e taxa de implantações embrionárias

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Sistema imune e citocinas

As citocinas são polipeptídeos ou glicoproteínas, extracelulares, heterogêneas, solúveis em água, que servem como mediadoras do sistema imune, e podem ser produzidas em cascata por várias enzimas intracelulares, como a proteína quinase ativadora de mitógenos (MAPK), exercendo seus efeitos específicos sobre as células de origem ou sobre células-alvo (RICE E CHARD, 1998). Elas atuam em células adjacentes (por ação parácrina) ou na própria célula produtora (por ação autócrina) (LIN et al., 2000; SOMMER E WHITE, 2010), além de possuírem atividade pleiotrófica, na qual uma única citocina pode agir em diversos tipos de células, modulando seu crescimento e a produção hormonal (SOUZA E URIBE-VELÁSQUEZ, 2008; OLIVEIRA et al., 2011; ALVARES et al., 2017). Sua formação em cascata permite que uma citocina estimule suas células-alvo a produzir mais citocinas (ZHANG E AN, 2007), de forma que ligações com receptores específicos ativam mensageiros intracelulares que regulam a transcrição gênica das citocinas (OLIVEIRA et al., 2011).

Acredita-se que a resposta imune *Helper1* (Th1; pró-inflamatória) é mediada pelo interferon (INF), juntamente a outras citocinas pró-inflamatórias como interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6), interleucina-7 (IL-7), interleucina-12 (IL-12) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α). Contrariamente, os mecanismos imunossupressores relacionados ao processo de cura e restrição dessas lesões, são mediados por citocinas envolvidas na resposta anti-inflamatória do *Helper2* (Th2), as interleucinas -4, -5, -10 e -13 (IL-4; IL-5; IL-10; IL-13) (COLIC et al., 2007).

No trato reprodutivo de mulheres, as citocinas apresentam papel determinante, uma vez que são moléculas imunorreguladoras que determinam a natureza da resposta imune (MAHDI et al., 2011). O sucesso da gestação depende de um eficiente sistema vascular no útero e na placenta, o qual modula harmonicamente as interações entre o endotélio vascular materno, a imunocompetência local das células e os determinantes antigênicos na superfície do trofoblasto; desta forma, os processos de adesão, ativação e

migração celular são regulados pelas alterações na cascata das citocinas (PEREIRA et al., 2005).

A reação inflamatória causada pelo processo ovulatório em fêmeas de camundongos inclui a participação de leucócitos e mediadores inflamatórios como eicosanóides, histamina e bradicinina, as quais são iniciadas e coordenadas pela liberação contínua de citocinas geradas pelos leucócitos recrutados para o ovário, ou nas próprias células ovarianas e no fluido folicular (SHIRASUMA et al., 2012; GALVÃO et al., 2013). Na função ovariana, várias citocinas desempenham um importante papel de controle (SIROTKIN, 2011), dentre estas o TNF- α induz a atresia folicular (KAIPIA E HSUEH, 1997) e, no CL recém-formado, inibe a secreção de progesterona, contribuindo para sua regressão (TERRANOVA E RICE, 1997). Durante a luteólise, há um aumento significativo no número substâncias luteolíticas no CL, com apoptose das células luteais e posterior fagocitose dos resíduos, auxiliando a remodelação da matriz luteal (WEEMS et al., 2006) e caracterizando a cascata luteolítica como uma resposta imune e inflamatória (ALVARES et al., 2017). Em contrapartida, outros fatores (citocinas, fatores de crescimento e hormônios) atuam durante o crescimento e desenvolvimento folicular para prevenir a atresia folicular, tais como gonadotrofinas, IL-1 β , fator de crescimento semelhante à insulina- I (IGF-I), fator de crescimento epidérmico (EGF), fator transformador do crescimento β (TGF- β), fator de crescimento de fibroblastos básico (FCFb) e estrogênios (VITAL REYES et al., 2005; SIROTKIN, 2011).

A implantação do blastocisto depende da expressão de citocinas pró-inflamatórias no útero (DEKEL et al., 2014; SAGRILLO-FAGUNDES et al., 2018), as quais desempenham um importante papel em cada etapa da implantação, modulando a expressão de moléculas de adesão na superfície do trofoblasto e nas células do endométrio, regulando a expressão de proteases que remodelam a matriz extracelular, e promovendo a invasão e diferenciação de trofoblastos (VAN MOURIK et al., 2009; McEWAN et al., 2009). O aumento de citocinas pró- e anti-inflamatórias, pode levar a alterações circulatórias na placenta, decorrentes da vasoconstrição por ativação de macrófagos (SAGRILLO-FAGUNDES et al., 2018).

Acredita-se que, durante a gestação, a placenta seja uma fonte predominante de antígenos para as células T, bem como alvo direto de

qualquer resposta imune; assim, o período pré-implantação envolve interações feto-maternas que levam ao reconhecimento materno da gestação e a sua manutenção, e o embrião sintetiza e secreta uma grande quantidade de citocinas, além de enzimas, prostaglandinas e hormônios (ALVARES et al., 2017). Sabendo-se que o embrião pode ser considerado um corpo estranho no organismo materno por carregar material genético paterno, as citocinas também podem modular o processo de rejeição embrionária (MITCHELL et al., 2002; SHECHTER et al., 2013), e o estabelecimento da gestação só será possível a partir do equilíbrio imunológico, primordial à tolerância desse enxerto semi-alogênico fetal (ORSI et al., 2006). Desta forma, isso é alcançado através do equilíbrio entre os níveis das citocinas pró-inflamatórias (Th1) e anti-inflamatórias (Th2) e de seus receptores, pois, durante esse período, as citocinas Th2 parecem ser as maiores responsáveis pela manutenção do sucesso gestacional, as quais são secretadas pelas células imunes competentes, pelas células decíduais e placentárias (ALVARES et al., 2017), como também pela síntese diferencial de imunoglobulinas e pela regulação de células imunes (MARGNI E ZENCLUSSEN, 2001).

Estes sinais secretados pelo embrião são antiluteolíticos, e visam interromper a produção de $\text{PGF}_2\alpha$ intra-ovariana, exercendo um efeito direto no CL, assim como ocorre com a gonadotrofina coriônica humana (hCG) em primatas (SPENCER et al., 2004). Por sua vez, o reconhecimento materno da gestação em roedores, ocorre na presença de reflexos neuroendócrinos, que ocasionam modificações no padrão secretório da prolactina hipofisária no início da prenhez, as quais se tornam determinantes para a formação do CL gestacional (OSADA et al., 2001). O desequilíbrio dessa relação leva à infertilidade e ao aborto espontâneo recorrente em fêmeas de camundongos (REID et al., 2001), o qual pode ser evitado através da administração de IL-10, uma vez que essa citocina desempenha um papel primordial na preservação da tolerância imunológica (CHENG E SHARMA, 2015) e, por conseguinte, na manutenção da gestação (ZOURBAS et al., 2001).

Foram identificados alguns reguladores do equilíbrio entre citocinas Th1/Th2; dentre estes, a progesterona, o fator bloqueador induzido pela progesterona (PIBF) e a prostaglandina E_2 (PGE_2 ; NAHUM et al., 2004). Este fato, possivelmente, explica porque as disfunções inflamatórias são

responsáveis por muitas das complicações do ciclo estral (VON WOLFF et al., 2000), placentação defeituosa (HUMINIECKI et al., 2001) e trabalho de parto prematuro (ZENCLUSSEN et al., 2003), em várias espécies mamíferas (ORSI et al., 2006).

Todas as mudanças uterinas sofridas durante a implantação e a placentação são primordiais para síntese, secreção e transporte de enzimas, hormônios, fatores de crescimento e citocinas (SPENCER et al., 2004). O aumento fisiológico nas concentrações de cortisol, progesterona, estradiol e testosterona, em estudos animais durante o terceiro trimestre gestacional, interfere nas concentrações das citocinas Th2, ocorrendo menor liberação de interferon- γ (IFN- γ) e IL-2 e maior produção de IL-4 e IL-10, e um possível envolvimento hormonal leva à supressão de IL-12 e TNF- α , juntamente com o aumento da Th2 (CUTOLO et al., 1998). A produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias, como a IL-1 β , TNF- α e IFN- γ , na ligação materno-fetal, pode ser prejudicial à prenhez e levar ao aborto, enquanto a IL-10 suprime a produção exacerbada de citocinas pró-inflamatórias em outras células, embora outras citocinas, também, possam contribuir para a sobrevivência fetal (MARZI et al., 1996; PELTIER, 2003).

No parto, ocorre bloqueio de receptores de progesterona, permitindo a liberação da cascata pró-inflamatória, destacando-se as citocinas IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α , as quais induzem maturação e dilatação cervical para aumentar a produção de ciclo-oxigenase-2 (COX-2) e PGE₂, promovendo, localmente, a migração de neutrófilos e macrófagos, uma vez que, a maior liberação da PGE₂ está relacionada à vasodilatação, semelhantemente ao óxido nítrico (NO), facilitando o fluxo de leucócitos para o local (PELTIER, 2003).

A IL-6 está diretamente relacionada às respostas imunológicas naturais e reações inflamatórias, tornando-se um dos maiores mediadores da fase aguda da inflamação, sendo produzida por diversos tipos celulares, dentre estes macrófagos, monócitos, eosinófilos e neutrófilos, assim como por hepatócitos e células da glia, induzidas pelo TNF- α e IL-1, além de sintetizar proteínas da fase aguda, promover a diferenciação dos linfócitos-T citotóxicos e células *natural killer* (NK), produzir IL-2 e crescimento celular hematopoiético (COICO, 2010). A IL-6 tem relação estrutural com IL-4, fator inibitório de leucemia (LIF), eritropoietina e fator neurotrófico ciliar (CNTF) (SOMMER E

WHITE, 2010). A IL-6 também ativa astrócitos e micróglia, e regula a expressão de neuropeptídeos após lesão neuronal, contribuindo para a regeneração do tecido (LIN et al., 2000; RAEBURN et al., 2002).

A IL-6 está presente durante quase toda a gestação em mulheres, no trato reprodutivo feminino, principalmente endométrio, regulando implantação embrionária, desenvolvimento placentário e adaptações imunológicas necessárias para a manutenção gestacional nas mulheres (ALVARES et al., 2017). Além de regular a placentação, hematopoiese fetal e angiogênese, associada à IL-1, regula a produção do hormônio lactogênio placentário (JAUNIAUX et al., 1996; YAMAGUCHI et al., 1996). Mulheres que apresentam aborto recorrente e camundongos híbridos CBA x DBA/2 possuem quantidades reduzidas de IL-6 no endométrio e nos tecidos fetal e placentário (ZENCLUSSEN et al., 2003). Ainda, camundongos *Knockout* para o gene IL-6, exibem maiores taxas de morte fetal e predisposição ao parto distócico (PRINS et al., 2012).

A IL-10 é uma citocina regulatória produzida nas células imunológicas, tecidos neuroendócrino e neural, sendo inibida pela IL-4, IL-13, IFN- γ e por sua própria regulação (LIN et al., 2000; RAEBURN et al., 2002; SOMMER E WHITE, 2010). A IL-10 inibe a ação do TNF- α , IL-1 e IL-6, promovendo a produção endógena de citocinas anti-inflamatórias, além de aumentar a proliferação de mastócitos e impedir a produção de IFN- γ pelas células NK (ZHANG E AN, 2007; OLIVEIRA et al., 2011).

Em mulheres e ratas gestantes, a IL-10 é expressa pelos trofoblastos, células estromais e NK uterinas, macrófagos, monócitos e células T reguladoras na decídua; porém, a mesma não é encontrada nos trofoblastos extravilosos (THAXTON E SHARMA, 2010; CHATERJEE et al., 2014). A IL-10 está presente nos camundongos durante todo o período gestacional, com pico de produção no décimo segundo dia (SVENSSON et al., 2001). Roberts et al. (2003) estudaram o papel da IL-10 durante a gestação, em fêmeas de camundongos *Knockout* comparadas às fêmeas gestantes selvagens, e concluíram que não houve alterações no tamanho da ninhada ou no desenvolvimento fetal, sugerindo que essa interleucina não é primordial à gestação. No entanto, afirmam que desempenha notável função no crescimento e remodelação placentária, pois as fêmeas de camundongos

Knockout, durante a gestação, apresentaram aumento no tamanho da placenta e da rede sanguínea materna, indicando que a IL-10 previne a inflamação excessiva no período gestacional (ROBERTS et al., 2003).

A IL-10 parece ter efeito protetor contra partos prematuros, abortos espontâneos e pré-eclâmpsia, fato confirmado em estudo com modelos animais murinos, nos quais a administração desta citocina recombinante reverteu ou minimizou algumas complicações gestacionais (KALKUNTE et al., 2010; THAXTON E SHARMA, 2010; CHATTERJEE et al., 2011; LAI et al., 2011; LIN et al., 2014; CHATTERJEE et al., 2014). A IL-10 também possui papel modulador na gestação, conforme estudo de Orsi et al. (2006), os quais encontraram aumento dessa citocina em camundongas, provavelmente visando equilibrar a elevação simultânea de TNF, IFN e IL-6 nesse período. Logo, tanto a IL-10 como a IL-4 podem reduzir a inflamação uterina materna durante os distintos períodos gestacionais, permitindo as trocas entre as células do endométrio e o trofoblasto, essenciais à manutenção da tolerância imunológica durante a gestação (CHATERJEE et al., 2014).

A IL-12 pró-inflamatória é responsável por mediar várias atividades biológicas em células T humanas e NK, bloquear os anticorpos anti-TNF- α , aumentar a síntese de IFN- γ em linfócitos periféricos, incrementando a citotoxicidade mediada por células e efeitos mitogênicos com células T em repouso (LANGRISH et al., 2004).

A IL-12 pode induzir ações pró-inflamatórias na fêmea, relacionando-se aos possíveis efeitos nocivos na gestação (REINA et al., 2004). Ainda, encontra-se um aumento da IL-12 no fluido cervicovaginal materno de mulheres, em partos prematuros (DUBICKE et al., 2010), placenta (EL-SHAZLY et al., 2004) e líquido amniótico (LEMANCEWICZ et al., 2001). No entanto, em estudo que investigou efeitos maternos e fetais da administração exógena de IL-12 sobre desempenho reprodutivo, toxicidade do embrião e desenvolvimento fetal e toxicidade materna, em fêmeas de camundongos ICR (CD-1), durante o período pré- e peri-implantação (segundo e sexto dias gestacionais), Reina et al. (2004) observaram que essa citocina não exerceu efeitos adversos sobre o desempenho reprodutivo de fêmeas tratadas com 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dia}$, induzindo discreta ação prejudicial nas mães, com maior ganho de peso corporal e menor consumo de água e alimentos, e redução no número do mesoderma paraxial

segmentado (somitos) nos embriões, porém, sem apresentar diferenças nos parâmetros de desenvolvimento ao nascimento entre os grupos, indicando que essas alterações possam ser transitórias.

Por outro lado, a IL-12 regula a citotoxicidade das células mononucleares decíduais (SUGITA et al., 2003), atua como co-estimuladora em aumentar a produção de IL-2, TNF- α e IFN- γ (ORSI et al., 2006), ou seja, apresenta papel crucial em regular a função placentária no final da gestação.

O fator de necrose tumoral (TNF- α) é uma citocina pró-inflamatória, multifuncional, secretada principalmente pelos monócitos/macrófagos, que possui efeitos sobre metabolismo lipídico, coagulação, resistência à insulina e funções endoteliais (MAHDI, 2011). Está relacionado a alguns processos fisiológicos que controlam a inflamação, respostas antitumorais e a homeostase do sistema imunológico (AGARWAL, 2003; CROFT, 2009), apresentando atividade protetora contra patógenos, os quais podem induzir morte de células infectadas (MEHTA et al., 2016). Atua, também, nos tecidos sobre as células estruturais, dentre eles fibroblastos e células epiteliais, controlando a atividade inflamatória. Estas ações são amplamente mediadas pelo receptor de TNF-1 (TNFR1, p55) (KOLLIAS E KONTOYIANNIS, 2002; CLARK et al., 2005; SFIKAKIS, 2010), o qual é expresso por quase todos os tipos celulares, sugerido como sendo o principal receptor solúvel para TNF- α (MEHTA et al., 2016).

O TNF- α desempenha um papel essencial no desenvolvimento folicular do ovário (JIANG et al., 2003), esteroidogênese (HALES et al., 1994; SASSON et al., 2002), ovulação (HALES et al., 1994; BRÄNNSTRÖM et al., 1995), luteólise (ABDO et al., 2003) e atresia folicular (MORRISON E MARCINKIEWICZ, 2002; CUI et al., 2011; YAMAMOTO et al., 2015). No ovário, é encontrado em células ovarianas e no fluido folicular de várias espécies, dentre elas roedores, animais domésticos e humanos e, em algumas destas espécies, em oócitos, células da granulosa e da teca, células luteais e endoteliais, macrófagos e no CL (TERRANOVA, 1997; SAKUMOTO E OKUDA, 2004; WIJAYAGUNAWARDANE E MIYAMOTO, 2004; ORSI et al., 2007), sendo secretado em grandes quantidades pelos macrófagos e neutrófilos ativados e por células não imunes (células endoteliais e fibroblastos)

(TERRANOVA, 1997; TERRANOVA E RICE, 1997; SOUZA E URIBE-VELÁSQUEZ, 2008).

O TNF- α gerado das células endoteliais dos folículos pré-ovulatórios de ovinos, possui papel determinante na fragilidade e ruptura da parede folicular ovariana, atuando como um importante fator inflamatório que desencadeia a ovulação (SOUZA E URIBE-VELÁSQUEZ, 2008; YAMAMOTO et al., 2015), fato observado em estudo realizado por Murdoch et al. (1997), os quais localizaram esta citocina em células endoteliais de folículos ovarianos pré-ovulatórios de ovelhas, sugerindo sua liberação na área da ruptura folicular, dado que a injeção intrafolicular de anti-soro TNF- α bloqueou a ovulação nesta espécie.

Abortos espontâneos recorrentes, falhas reprodutivas (EL-FAR et al., 2009), complicações gestacionais e partos prematuros (ZENCLUSSEN et al., 2003) em mulheres, estão associados a níveis séricos aumentados de TNF- α (EL-FAR et al., 2009), sugerindo processos trombóticos/inflamatórios em vasos sanguíneos uteroplacentários maternos por ativação de fatores pró-coagulantes endoteliais (MAHDI, 2011). A concentração de TNF- α é baixa durante quase toda a gestação, fato ocasionado pelo ambiente hormonal uterino, pois sua liberação é inversamente proporcional à progesterona sérica em fêmeas de camundongos (HIRABAYASHI et al., 1999). Portanto, durante a implantação embrionária e o terço final da gestação, os níveis de TNF- α são menores (ORSI et al., 2006), mesmo que ele seja responsável por promover a angiogênese (GARDINER et al., 2005), de forma que, elevados níveis dessa citocina ocorrem próximo ao parto (ATHANASSAKIS E ICONOMIDOU, 1996), devido à indução da síntese de metaloproteinases, responsáveis pela preparação do trabalho de parto (VADILLO-ORTEGA E ESTRADA-GUTIERREZ, 2005).

O interferon gama (IFN- γ) é uma glicoproteína pró-inflamatória secretada por células T e NK, em resposta a uma variedade de estímulos, que possui efeitos múltiplos e pleiotróficos em células imunes e não imunes, incluindo a capacidade de inibir a proliferação de células Th2 e induzir a mudança de classe das imunoglobulinas, promovendo, assim, a produção de IgG2a (OPPENHEIM, 2014). Durante a resposta imune, sua produção resulta na expansão de células Th1 e promoção da morte de macrófagos em resposta

aos micro-organismos e parasitas intracelulares, além de induzir ou regular positivamente a expressão do complexo maior de histocompatibilidade (MHC) de classe II nas células imunes e não imunes, em um efeito que pode contribuir para a patogênese da autoimunidade (RUS E VIA, 2007; OPPENHEIM, 2014).

Os IFNs conduzem interações essenciais no útero ao longo do estabelecimento da gestação e são expressos em primatas, roedores e animais ungulados durante o período peri-implantação (BAZER et al., 2009). Em níveis fisiológicos, o IFN- γ é essencial à angiogênese e remodelação dos vasos uterinos, garantindo o sucesso da implantação; porém, em quantidades aumentadas, em mulheres e vacas, está relacionado a várias complicações gestacionais, principalmente à perda fetal e pré-eclâmpsia (MURPHY et al., 2009).

Em gestações normais de roedores, durante a implantação embrionária, o IFN- γ auxilia no remodelamento vascular endometrial, angiogênese nos locais de implantação e manutenção de componentes da placenta (MURPHY et al., 2009); no entanto, quando sua produção é exacerbada, é prejudicial à sobrevivência do embrião (ROBERTSON et al., 2018). Em fêmeas de camundongos, os níveis fisiológicos do IFN- γ são essenciais para o desenvolvimento decidual e remodelamento arterial gestacional, de forma que, o tratamento de destas fêmeas prenhes e que não possuem órgãos linfoides com IFN- γ recombinante de camundongo, conduziu morfologia normal em suas artérias decíduas e espirais (MURPHY et al., 2009). Ainda, a administração de IFN- γ , em células epiteliais do trato reprodutivo de camundongos e humanos, levou à inibição da secreção de uma citocina essencial na promoção do crescimento e diferenciação do blastocisto, o fator estimulador de granulócitos e macrófagos (GM-CSF) (GLYNN et al., 2004).

Quimiocinas ou citocinas quimiotáticas são pequenas proteínas de ligação à heparina, constituindo a família de peptídeos, com cerca de 60-100 aminoácidos, estruturalmente relacionados às citocinas, cuja principal função é regular o tráfego das células (DESHMANE et al., 2009). As quimiocinas podem ser classificadas em quatro subfamílias, com base no número e localização de cisteína no N terminal da molécula, sendo denominadas CXC, CC, CX3C e C, conforme a nomenclatura sistemática (ROLLINS, 1997).

A proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1/CCL2) é uma pequena citocina pró-inflamatória, membro da família de quimiocinas CC e potente fator quimiotático e ativador de monócitos, sendo produzida por diversos tipos celulares, incluindo células endoteliais, epiteliais, fibroblastos, musculares lisas, monocíticas e, principalmente, pelos monócitos/macrófagos (ZHANG E AN, 2007; SOMMER E WHITE, 2010). A MCP-1 é uma das quimiocinas mais estudadas e parece ser potencialmente importante em auxiliar no tratamento de diversas doenças, incluindo esclerose múltipla (SORENSEN et al., 2004), artrite reumatoide (HAYASHIDA et al., 2001), aterosclerose (KUSANO et al., 2004) e diabetes melito (SARTIPY E LOSKUTOFF, 2003), atuando na regulação da migração e infiltração de monócitos, basófilos, linfócitos T e células NK em vários tecidos, inclusive nos ovários (DESHMANE et al., 2009).

Em vacas, os macrófagos estão envolvidos na destruição do tecido luteal durante a luteólise, e sugeriu-se que a MCP-1 possa controlar o influxo de macrófagos no CL desta espécie (PENNY et al., 1998). A MCP-1 também foi descrita nas células luteais suínas (HOSANG et al., 1994), e sua expressão aumentada é observada no CL de ratas antes do influxo de monócitos/macrófagos no estágio luteal tardio e na regressão induzida pela prolactina (BOWEN et al., 1996; TOWNSON et al., 1996).

Nas mulheres, os níveis fisiológicos de MCP-1 são temporariamente elevados no líquido folicular periovulatório e nas células do estroma ovariano durante o processo ovulatório (DAHM-KAHLER et al., 2009), contribuindo para a ovulação. Em contrapartida, na obesidade, os níveis de MCP-1 estão excepcionalmente aumentados no tecido adiposo, levando ao recrutamento de monócitos teciduais (KANANDA et al., 2006) e propiciando um baixo estado inflamatório crônico, fato confirmado em estudos com animais, nos quais o RNAm do MCP-1 é altamente expresso no tecido adiposo de camundongos geneticamente obesos, quando comparados com ninhadas selvagens (SARTIPY E LOSKUTOFF, 2003). Estudos adicionais *in vitro*, destes mesmos autores, levantam a hipótese de que a MCP-1 pode contribuir para o desenvolvimento da resistência à insulina, induzindo à dislipidemia.

3.2 Resveratrol

Inúmeros compostos apresentam propriedades benéficas à saúde, dentre eles destacam-se os polifenóis, por serem um grupo heterogêneo de substâncias químicas encontrados nas plantas (frutas, verduras e legumes) e nas bebidas (chá, vinho, cacau e café), os quais apresentam atividade protetora nas doenças cardiovasculares (HALL, 2003), neurodegenerativas (SUN et al., 2002), e na prevenção do câncer (LAMBERT et al., 2005; BISHAYEE E DHIR, 2009). Em geral, todos esses benefícios são explicados pelas suas propriedades antioxidantes (FRANKEL et al., 1995), anti-inflamatórias (HAQQI et al., 1999) e anticancerígenas (YANG et al., 2001).

Dentre os polifenóis naturais contidos no vinho, o resveratrol (3,5,4'-trihidroxiestilbeno) é considerado o composto fenólico de maior eficácia biológica (FRÉMONT, 2000); o mesmo é uma fitoalexina (compostos químicos caracterizados pelo baixo peso molecular e pela habilidade de inibir o progresso de certas infecções), pertencente à família estilbeno, sintetizado naturalmente na planta nas formas isômeras, *trans* e *cis*-resveratrol (3,5,4'-trihidroxi- *trans*-estilbeno e 3,5,4'-trihidroxi- *cis*-estilbeno – Figura 1), *trans* e *cis*-piceido (trans-resveratrol 3-O-β-glucosideo e cis-resveratrol 3-O-β-glucosideo) e *viniferins* (trans-viniferins) (MORENO et al., 2012; GAMBINI et al., 2015; De VRIES et al., 2018), sendo a forma *trans*-resveratrol a mais estável do ponto de vista estérico (TRELA E WATERHOUSE, 1996).

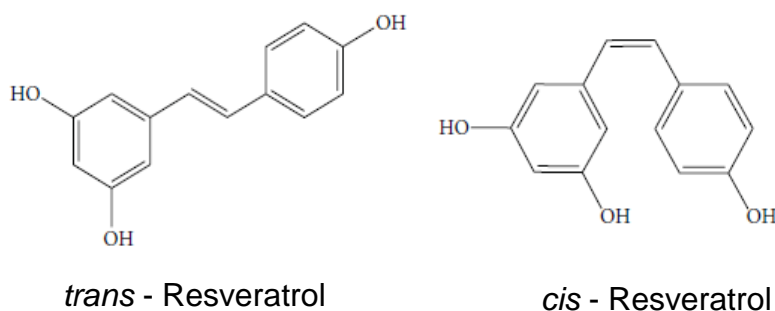


Figura 1. Estrutura química do *trans*- e *cis*-Resveratrol.

Fonte: Gambini et al. (2015)

As maiores concentrações dos compostos polifenólicos da uva se encontram no pecíolo e casca, especialmente nas células epidérmicas e sementes, com baixa concentração na polpa, sendo que a obtenção de elevadas concentrações de resveratrol depende, principalmente, da variedade e tipo da uva, do grau de infecção pelo fungo *Botrytis cinerea*, de fatores ambientais, do solo e das práticas enológicas (INFANTE, 1997; BAVARESCO, 2003). A biossíntese do resveratrol ocorre em concentrações sob a qual se encontra a videira na fase de frutificação, estimulada pelo estresse causado pelo ataque fúngico, dano mecânico na uva, ou exposição à radiação ultravioleta e aos agentes químicos (PIROLA E FRÖJDÖ, 2008; PAN et al., 2009), sendo desencadeada por um sinal químico, o qual induz aumento da expressão do gene estilbeno sintetase, responsável pela formação da enzima estilbeno sintetase que, por sua vez, catalisa a reação com alguns substratos presentes nas plantas, originando o resveratrol na área afetada (SCHRODER et al., 1988; JEANDET et al., 2002). O vinho tinto (concentrações de 0,1-14,3 mg/L) é mais rico em resveratrol que o vinho branco pois, durante a produção do vinho tinto, partes da uva onde o resveratrol se concentra são maceradas, o que não acontece no vinho branco (SIEMANN E CREASY, 1992; SOLEAS et al., 1997).

Pesquisas sugerem que a ingestão de resveratrol tem um efeito benéfico em mulheres gestantes, fato confirmado em estudo clínico que avaliou efeitos metabólicos do resveratrol em mulheres gestantes com sobrepeso, demonstrando que a suplementação de 80 mg de resveratrol durante 60 dias reduziu a incidência de diabetes melito gestacional, melhorou o perfil lipídico e diminuiu a glicose sanguínea (MALVASI et al., 2017). Gestantes com quadros de pré-eclâmpsia que receberam suplementação de 50 mg de resveratrol, tiveram redução da pressão arterial e, quanto maior a dose e o tempo de administração, melhor foi o resultado (DING et al., 2017). Usando amostras de placentas humanas, Lappas et al. (2011) investigaram os efeitos da incubação com resveratrol (50, 100 e 200 $\mu\text{mol/L}$), na resistência à insulina e na inflamação placentária associada ao diabetes melito gestacional, e concluíram que o resveratrol foi capaz de melhorar a inflamação placentária desencadeada pelos lipopolissacarídeos, com diminuição de TNF, IL-6 e IL-8. Ainda, Tran et al. (2017) verificaram que

o tratamento com 200 $\mu\text{mol/L}$ de resveratrol em mulheres gestantes, reduziu significativamente a secreção e a expressão de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6, IL-1 α , IL-1 β , IL-8 e MCP-1 no tecido adiposo e na placenta, sendo capaz de restaurar a sinalização prejudicada da insulina e a atividade de captação da glicose.

Experimentos em humanos e modelos animais mostraram que o consumo materno de resveratrol pode melhorar o metabolismo da glicose quando gestantes e na prole (SZKUDELSKI E SZKUDELSKA, 2015). A suplementação de resveratrol ao longo da gestação em primatas não humanos reduziu o ganho de peso, melhorou a tolerância à glicose e aumentou o fluxo sanguíneo na artéria uterina, além de reduzir a deposição de triglicérides no fígado e diminuir a inflamação placentária (ROBERTS et al., 2014). Ao utilizar um modelo genético de camundongos com diabetes melito gestacional, Yao et al. (2015) observaram que a ingestão de 10 mg/kg/dia de resveratrol, antes e durante a gestação, reduziu significativamente a hiperglicemia e melhorou a resistência à insulina nas ratas gestantes, além de aumentar a sobrevivência fetal e diminuir o peso corporal da prole ao nascimento.

A ingestão materna de resveratrol melhora o metabolismo lipídico das mães e da prole gerada em ratos Wistar, conforme estudo em que o consumo de resveratrol materno (50 mg/L na água de beber) durante a gestação e lactação reduziu peso corporal, nível sérico de leptina e peso do tecido adiposo visceral e subcutâneo, sendo que a prole feminina foi mais afetada, indicando um impacto positivo do dimorfismo sexual (ROS et al., 2017). Ainda, Franco et al. (2016) concluíram que a ingestão materna de 30 mg/kg/dia de resveratrol diminuiu o peso corporal e a massa gorda na prole gerada, além de reverter a hiperleptinemia e melhorar a sinalização da leptina hipotalâmica. Em roedores, a administração de 100 mg/kg de resveratrol, do terceiro ao décimo segundo dias de desenvolvimento embrionário, em ratas gestantes diabéticas, preveniu a ocorrência de estresse oxidativo e apoptose nos embriões e diminuiu os níveis de colesterol (41,74%) e triglicérides (60,64%) nas mães (SINGH et al., 2011). O resveratrol reduziu o ganho de peso corporal, a porcentagem de gordura intra-abdominal, os triglicérides séricos, o colesterol e os ácidos graxos livres

em animais de laboratório alimentados com uma dieta rica em gordura (RIVERA et al., 2009; SHARMA et al., 2017).

A ingestão materna de resveratrol durante a gestação acarreta benefícios à mãe e à prole gerada em mamíferos, mas os mecanismos fisiológicos envolvidos nestes efeitos ainda não são claros, e acredita-se que a programação do desenvolvimento fetal possa ser um dos mecanismos que elucide a relação entre nutrição materna e saúde metabólica da prole (COSTA-SILVA et al., 2016). Dentre estes, as propriedades anti-inflamatórias (OLIVEIRA et al., 2017) e antioxidantes (TRUONG et al., 2017) do resveratrol podem diminuir a reação inflamatória na placenta e normalizar o nível de estresse oxidativo embrionário (ROBERTS et al., 2014). Outro possível mecanismo é a modificação epigenética (ESTAMPADOR E FRANKS, 2014), já que pode haver uma ligação entre a nutrição nos primeiros anos de vida e a saúde cardiometabólica no indivíduo adulto (ZHENG et al., 2014; XIAO E ZHENG, 2014).

Dentre os fatores estressores que promovem a restrição do crescimento intrauterino e aumentam as chances de doenças cardiovasculares na prole estão a presença de hipóxia materna (MORTON et al., 2010; RUEDA-CLAUSEN et al., 2011a) e a síndrome metabólica (RUEDA-CLAUSEN et al., 2011b). A suplementação com 4 g/kg de resveratrol adicionado à ração, em fêmeas gestantes de roedores submetidas à hipóxia pré-natal, revelou que a hipóxia causou uma queda na ingestão alimentar e diminuiu o ganho de peso das mães; no entanto, foi possível detectar o resveratrol no plasma das mães hipóxicas e de seus fetos, indicando que o mesmo é capaz de atravessar a placenta e afetar diretamente o feto (BOURQUE et al., 2012). Em conformidade, Jang et al. (2008) mostraram que o resveratrol é benéfico contra a malformação embrionária induzida pelo diabetes, acreditando também que o resveratrol atravessa a barreira placentária.

O resveratrol também atua retardando o início e o progresso de várias doenças (BERMAN et al., 2017), através de diferentes recursos, dentre eles, a ativação da enzima sirtuína 1 (SIRT1), que atua na coordenação de diversos fatores transcricionais, afetando metabolismo, resistência ao estresse, sobrevivência, senescência celular, função imune da inflamação, funções endoteliais e ritmos circadianos (PIROLA E FRÖNJÖ, 2008). Deste modo, o

resveratrol intervém no controle metabólico anormal, inflamação, e defeitos do ciclo celular e apoptose ao atuar sobre a SIRT1 (YU et al., 2012; BERMAN et al., 2017).

O resveratrol protege a função mitocondrial pela ativação do gene SIRT1 no ovário, o qual encontra-se nas células da granulosa, células do *cumulus* e oócitos (MORITA et al., 2012; WANG et al., 2014). Kong et al. (2011), ao avaliarem o efeito do resveratrol no ovário de ratas em diferentes faixas etárias, constataram aumento significativo do número total de oócitos, diminuição do número de folículos atresícos e inibição da apoptose. Ainda, Liu et al. (2013), ao verificarem o efeito do resveratrol sobre o aumento da infertilidade associada à idade em fêmeas de camundongos, concluíram que o mesmo protege a fertilidade de fêmeas contra as mudanças relacionadas ao envelhecimento e possibilita o aumento do número de folículos saudáveis e da quantidade e qualidade dos oócitos.

Esse polifenol é um nutracêutico que tem atraído atenção de diferentes pesquisadores devido ao seu potencial farmacológico para o tratamento das mais diferentes enfermidades (BERMAN et al., 2017).

3.3 Melatonina

A melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina – Figura 2) é uma indolamina, sintetizada a partir do aminoácido essencial triptofano, que é transformado, inicialmente, em 5-hidroxitriptofano pela enzima triptofano hidroxilase 1, que passa por uma descarboxilação subsequente, catalisada pela descarboxilase de 1-aminoácidos aromáticos, resultando na serotonina (5-hidroxitriptamina). Esta, por sua vez, é acetilada pela reação da enzima aril-alquilamina N-acetiltransferase e convertida em N-acetilserotonina, a qual possui o grupamento hidroxila trocado por metil pela ação da hidroxindol-O-metiltransferase, culminando na formação da melatonina (CIPOLLANETO et al., 1999; AMARAL, 2009; CHABRA et al., 2014).

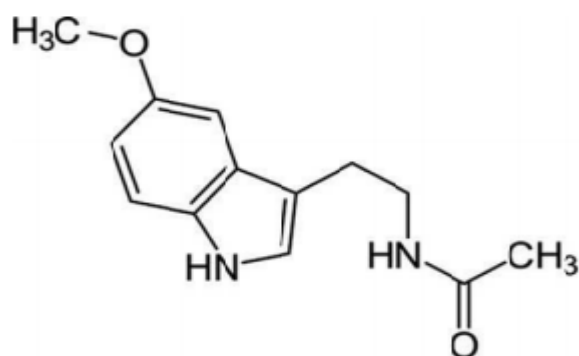


Figura 2. Estrutura química da melatonina.

Fonte: Chabra et al. (2014)

Suas principais vias de metabolização ocorrem no fígado e no cérebro. No fígado, a melatonina é hidroxilada, formando 6-hidroximelatonina, evoluindo para uma conjugação com sulfato ou glucoronato, sendo posteriormente excretada na urina sob a forma de 6-sulfatoximelatonina, que é a forma mais estável e de fácil avaliação pela determinação urinária. No cérebro, a melatonina é convertida em N-acetil-2-formilmetoxiquinurenamina, que sofre transformação imediata a N-acetil-5-metoxiurenamina (MACCHI E BRUCE, 2004; CLAUSTRAT et al., 2005).

A melatonina é uma molécula anfifílica e de pequeno tamanho, que atravessa facilmente todas as barreiras morfológicas, sendo capaz de reduzir o dano oxidativo em toda a célula (REITER et al., 2013), além de possuir a capacidade de se difundir igualmente em meios lipofílicos e hidrofílicos, sendo transportada no plasma, principalmente ligada à albumina, com vida média de 30 a 60 minutos (MAGANHIN et al., 2008). Está presente em quase todos os organismos, dentre eles algas, bactérias, fungos, plantas e animais (TAN et al., 2012; ZHAO et al., 2013), sendo produzida principalmente na glândula pineal, como, também, em menor quantidade em muitos órgãos, tecidos e células, tais como retina, glândula lacrimal extra-orbitária, cérebro, medula espinhal, trato gastrointestinal, testículos e ovários, linfócitos e pele (HUETHER, 1993; ITOH et al., 1999; REITER et al., 2013), os quais contribuem, de forma parácrina, para a regulação de processos fisiológicos locais (REITER et al., 2014b; HE et al., 2015).

No século XVII, a pineal foi descrita como o “centro da alma”, localizada entre os dois hemisférios cerebrais, sendo inervada pelo sistema nervoso

autônomo, o qual emerge do gânglio cervical superior e recebe sinais da medula espinhal. A sincronização e efeitos de entrada da melatonina na corrente sanguínea são mediados por um pigmento sensível à luz azul, a melanopsina, que reside nas células ganglionares da retina, as quais projetam-se para o sistema nervoso central via trato retino-hipotalâmico (HATTAR et al., 2002; PFEFFER et al., 2018). Os núcleos supraquiasmáticos hipotalâmicos recebem informações sobre a iluminação ambiental, as quais são enviadas através do nervo óptico, passando pelas fibras pré-ganglionares da medula espinhal, gânglio cervical superior, causando liberação de noradrenalina dos terminais nervosos simpáticos pós-ganglionares, e chegando até a glândula pineal (LEMOS, 2013), controlando a atividade neural sobre o comprimento do período escuro diário, essencial para o sono (REITER, 1993; CIPOLLA-NETO E AFECHÉ, 2008).

A melatonina atua, além da regulação da estacionalidade reprodutiva em animais sazonais (ANISOMOV, 2003; BERGER, 2008; REVEL et al., 2009; TEIXEIRA et al., 2004), também na regulação da temperatura corporal, no controle do comportamento sexual em hamsters, equinos, ovinos, caprinos, veados (TAMURA et al., 2009; TAN et al., 2010) e na atividade esteroidogênica gonadal (WOO et al., 2001). Além disso, ela exerce diversas funções nos seres vivos, tais como atuação neuroprotetora, através de sua atividade antioxidante, tanto da formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e de nitrogênio (RNS) (SILVA et al., 2011; TAN et al., 2013; CEBRIÁN-PÉREZ et al., 2014; REITER et al., 2014a; KUMAR et al., 2015), como na inibição de enzimas pró-oxidantes e de citocinas pró-inflamatórias (RODRIGUEZ et al., 2007; KORKMAZ et al., 2009; CHAHBOUNI et al., 2010). Age sinergicamente com outras moléculas a fim de mobilizar mecanismos reparadores do DNA e regular o processo de apoptose celular (MAYO et al., 1998), além de sua ação regulatória sobre diversas enzimas, controlando também o metabolismo oxidativo e o transporte intra-mitocondrial de elétrons (REITER et al., 2004). O papel da melatonina tem sido envolvido nas alterações epigenéticas e no estresse oxidativo associados à programação fetal (KORKMAZ E REITER, 2008; KORKMAZ et al., 2012; LUO et al., 2006).

A passagem da melatonina materna através da placenta (OKATANI et al., 1998; RICHTER et al., 2009; CHEN et al., 2013) expõe o feto a um ritmo

diário de melatonina de baixas concentrações durante o dia e altas concentrações à noite; portanto, inicialmente, a melatonina está envolvida na indução da ritmicidade circadiana dos órgãos fetais, demonstrando sua capacidade de promover o desenvolvimento embrionário em diferentes espécies (YELLON E LONGO, 1988; MCMILLEN E NOWAK, 1989). Este fato foi confirmado quando embriões de camundongos cultivados em meio contendo melatonina, tiveram aumento das taxas de desenvolvimento dos blastocistos (ISHIZUKA et al., 2000). Além disso, a melatonina tem um papel benéfico no desenvolvimento *in vitro* de embriões de roedores em estágio de duas células (TIAN et al., 2010) e auxilia na maturação de blastocistos de bovinos (SAMPAIO et al., 2012).

De fato, os receptores de membrana e nucleares da melatonina, estão presentes nos ovários de mamíferos, tanto em células da teca quanto granulosas, em folículos maduros e no CL, indicando que a melatonina age diretamente na fisiologia ovariana (YONEI et al., 2010). Ainda, como a melatonina atravessa facilmente a placenta e a barreira hematoencefálica fetal, ela desempenha um papel fundamental no desenvolvimento dos órgãos fetais e na vida extra-uterina, podendo, inclusive, reverter os efeitos da programação fetal associados a gestações comprometidas pelo estresse oxidativo (CHEN et al., 2013).

Sandyk et al. (1992) encontraram relação entre melatonina e a prevenção do aborto espontâneo, devido ao seu papel em reduzir as contrações uterinas, diminuir a produção de prostaglandinas e prevenir a rejeição imunológica do trofoblasto, estimulando, assim, a produção de progesterona. Conforme Matsuzuka et al. (2005), a administração de melatonina em ratas pode reduzir a morte embrionária. Portanto, a melatonina materna desempenha um papel fundamental na modulação de importantes funções na fisiologia, regulação do desenvolvimento dos órgãos fetais e na prevenção da perda gestacional, que possuem vital importância na adaptação bem-sucedida do recém-nascido à vida extrauterina (TORRES-FARFAN et al., 2008), já que foram identificados receptores de melatonina em tecidos fetais de hamsters Siberianos (RIVKEES E REPERT, 1991), ovinos (HELLIWELL E

WILLIAMS, 1994), humanos (THOMAS et al., 2002) e ratos (JIMENEZ-JORGE et al., 2005).

Evidências diretas comprovam a ação da melatonina sobre a função ovariana em ratas e mulheres, dentre elas na modulação da esteroidogênese ovariana (MASANA et al., 2005), especialmente na produção da progesterona (ADRIAENS et al., 2006). Pesquisas demonstram que os níveis de melatonina no fluido folicular são diretamente proporcionais ao crescimento folicular, e inversamente relacionados aos altos níveis de ROS gerados durante o período de maturação folicular, também referentes às propriedades antioxidantes da melatonina (TAMURA et al., 2012). A melatonina tem um efeito inibitório sobre o fator de transcrição nuclear Kappa-B (NK- κ B), representando um importante mecanismo de proteção celular contra a inflamação e a produção de ROS induzida pela inflamação, além de inibir outras vias imune-inflamatórias (MAJIDINIA et al., 2018).

Em testes de toxicidade, a melatonina não demonstrou efeitos prejudiciais no desenvolvimento dos embriões de camundongos e de ratos (CHAN E NG, 1994; MCELHINNY et al., 1996). Em ratas prenhes, a administração de altas doses de melatonina (200 mg/kg/dia) do sexto ao décimo nono dias de gestação, não afetou negativamente o desenvolvimento da prole gerada (JAHNKE et al., 1999). Além disso, segundo Sadowsky et al. (1991), altas doses de melatonina não mostraram efeito negativo aparente no bem-estar fetal ou materno e não afetaram a atividade miométrial durante o final da gestação; porém, a melatonina inibe a atividade das prostaglandina sintases, as quais têm importantes funções circulatórias e endócrinas no feto (LEACH E THORBURN, 1980).

Ratos pinealectomizados desenvolvem resistência insulínica em adipócitos e células musculares, a qual depende da redução da síntese dos transportadores de glicose do tipo GLUT4, e a reposição da melatonina restaura o conteúdo desse transportador no tecido adiposo (SCALERA et al., 1990; SERAPHI et al., 2000). Em conformidade, pesquisadores encontraram alterações morfológicas e morfométricas nas células β produtoras de insulina no pâncreas em ratos pinealectomizados, demonstrando a importância da melatonina na resistência à insulina (DE LIMA et al., 2001). Desta forma, acredita-se que a melatonina também interfere indiretamente na função

ovariana, devido ao distúrbio endócrino relacionado à hiperinsulinemia e aos fatores insulinóides (LUBOSHITZKY et al., 2001).

A supressão do ritmo circadiano da melatonina plasmática materna pela exposição contínua à luz, durante a segunda metade da gestação em fêmeas de ratos, mostrou vários efeitos sobre o desenvolvimento fetal (VOICULESCU et al., 2014). Os resultados de Mendez et al. (2012) demonstraram, primeiramente, indução do retardo do crescimento uterino e, em segundo lugar, a suprarrenal fetal *in vivo* afetou significativamente a expressão do RNAm dos genes que controlam o ritmo circadiano, bem como reduziu o conteúdo e modificou o ritmo de secreção da corticosterona, mas todas essas mudanças foram revertidas quando a mãe recebeu doses diárias de melatonina durante a noite.

A função da melatonina no sistema genital feminino em mulheres está diretamente relacionada às gônadas, conforme a identificação de sítios de ligação da melatonina durante o início gestacional (TAMURA et al., 2008) e da caracterização do receptor de melatonina em ovários de ratas (DUBOCOVICH et al., 2003), demonstrando sua importância no desenvolvimento normal e na função placentária. Pesquisadores observaram altas concentrações de melatonina no líquido do folículo pré-ovulatório (RONNBERG et al., 1990) e de seus receptores, seja do tipo I (MT1) e do tipo II (MT2) nos folículos ovarianos humanos (VIJAYALAXMI et al., 2002). Além disso, alterações nos níveis séricos de melatonina estão relacionados com distúrbios da ovulação em mulheres (LUBOSHITZKY et al., 2003) e ratas (DAIR et al., 2008).

3.4 Perfil lipídico na reprodução da fêmea

Os lipídeos são moléculas hidrofóbicas com diversas funções biológicas, que incluem servir como uma rica fonte de energia, atuar como mediadores de sinalização celular, e participar na formação da membrana das organelas (DUNNING et al., 2014), sendo importantes para a maturação do oócito e para o início do desenvolvimento embrionário, especialmente em animais de produção (MCKEEGAN E STURMEY, 2011; LEESE, 2012). São necessários também, para a síntese de hormônios esteróides e desempenham importantes papéis no desenvolvimento do cérebro e em vias de sinalização

cerebrais (WILLNOW et al., 2007; SELI et al., 2014), as quais são indispensáveis a uma variedade de processos como embriogênese, homeostasia de tecidos adultos, restauração em processos inflamatórios crônicos e carcinogênese (YOSHIMOTO, 2011).

Em camundongos, os oócitos regulam de forma positiva a expressão de enzimas necessárias à β -oxidação durante sua maturação (DUNNING et al., 2010; SELI et al., 2014). A β -oxidação, que ocorre na matriz mitocondrial, é responsável pelo catabolismo dos ácidos graxos de cadeia longa para produzir ATP (DUNNING et al., 2014). A ablação do *Acox1* (gene responsável pela β -oxidação), levou à esterilidade em fêmeas de camundongos, além de estar associada a ovários menores (FAN et al., 1996), porém o mecanismo fisiológico que relaciona o *Acox1* à esterilidade feminina, ainda não foi elucidado (DUNNING et al., 2014). Já em bovinos e suínos, os oócitos consomem triglicérides (FERGUSON E LEESE, 1999; STURMEY E LEESE, 2003; SELI et al., 2014). Esses processos consomem muita energia para geração de ATP e, para que ocorra um desenvolvimento oocitário adequado, são necessários altos níveis de ATP intracelular (VAN BLERKOM et al., 1995); logo, o substrato energético proveniente do fluido folicular e do complexo *cumulus*-oócito (CCO), seguramente, contribui para a qualidade do oócito formado (DUNNING et al., 2014).

Os oócitos são células que armazenam grandes quantidades de lipídios e, durante a maturação oocitária, os depósitos intracelulares lipídicos sofrem intensas mudanças, como ocorre no oócito suíno, em que as gotículas lipídicas têm acentuada distribuição periférica após a maturação *in vitro* (STURMEY et al., 2006). Em bovinos, os oócitos exibem um pequeno, mas significativo, aumento no número de gotículas lipídicas (AARDEMA et al., 2011). Em oócitos de ratos, as gotículas lipídicas sofrem uma reorganização estrutural, agregando-se centralmente durante a maturação *in vitro* (YANG et al., 2010) e *in vivo* (WOOD et al., 2008; WU et al., 2010). Acredita-se que, em condições fisiológicas, o conteúdo lipídico possa influenciar a competência de desenvolvimento embrionário do oócito e a fertilidade, como ocorre nos camundongos, em que uma pobre competência de desenvolvimento embrionário se manifesta com menos gotículas lipídicas em relação aos oócitos bem desenvolvidos (KIM et al., 2001; MONTI et al., 2013). Estas variações no

conteúdo lipídico dos oócitos, nas diferentes espécies, ocorrem devido aos distintos parâmetros fisiológicos durante o início do desenvolvimento embrionário e, certamente, os ácidos graxos de cadeia longa predominantes nos oócitos de mamíferos, por serem ricos em energia, podem influenciar a integridade e fluidez da membrana celular (ZHANG et al., 2012).

Pouco se sabe sobre o metabolismo lipídico no desenvolvimento embrionário (SELI et al., 2014), pois a maior parte dos trabalhos está relacionada à sua importância após a implantação (WOOLLETT, 2008; SELI et al., 2014).

O colesterol é um lipídeo que atua como precursor dos hormônios esteróides, sendo considerado a principal fonte de substrato para a esteroidogênese, além de ser essencial à função gonadal (LOBOCCARO et al., 2013) e a síntese da membrana de células em proliferação (WILLNOW et al., 2007; WOOLLETT, 2008). Ainda, é primordial à maturação folicular ovariana, sendo necessária a síntese de altas concentrações desses esteróides pelas células da teca e da granulosa ou o transporte do colesterol para as células foliculares (VAN MONFOORT et al., 2014). O colesterol é insolúvel em água, sendo transportado pelo sangue nas partículas de lipoproteínas, isto é, lipoproteínas de alta densidade (HDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) (JASPARD et al., 1997; ANNEMA E TIETGE, 2012; DUNNING et al., 2014).

Sob o controle do hormônio luteinizante (LH), no folículo ovariano o colesterol é convertido em androstenediona e testosterona que, pela ação do hormônio folículo estimulante (FSH), é convertida em estrógeno, primordial para prevenir a atresia folicular (ERICKSON E SCHREIBER, 2001). O colesterol também é necessário para a produção de progesterona, a qual é essencial à manutenção inicial da gestação, já que, após a ovulação, as células da teca e da granulosa se diferenciam em células luteinizadas do CL (CHRISTENSON E DEVOTO, 2003).

As partículas de HDL e LDL desempenham importantes funções na esteroidogênese das células da teca e da granulosa, servindo como fonte predominante de colesterol (HUGHES et al., 2011), o qual provém de vários mecanismos, dentre eles a absorção seletiva, endocitose mediada por receptores, utilização de colesterol da membrana plasmática e do

armazenamento de gotículas lipídicas intracelulares (FUJIMOTO et al., 2010). Além disso, o HDL fornece nutrientes lipídicos às células do *cumulus* foliculares e aos oócitos para a síntese da membrana, produção local de hormônios esteróides e outros processos essenciais à maturação do oócito (DUNNING et al., 2014). Pode, também, ter um papel no efluxo de colesterol das células do oócito e do *cumulus*, participando, assim, da manutenção do equilíbrio celular do colesterol (ROTHBLAT et al., 1999). Portanto, qualquer anormalidade no metabolismo do HDL que afete sua estrutura, composição e função, pode comprometer a fertilidade feminina (MIETTINEN et al., 2001). Ainda, o aumento do HDL no fluido folicular humano está associado a uma baixa fragmentação embrionária, sugerindo um papel crioprotetor no oócito (BROWNE et al., 2008, 2009). Portanto, acredita-se que, em mamíferos, o HDL seja a única lipoproteína presente em quantidade substancial no fluido folicular devido à porosidade da membrana basal do folículo, que é permeável às suas proteínas séricas de pequeno tamanho (SHALGI et al., 1973; LE GEOFF, 1994).

A conhecida “Dieta do Mediterrâneo” (rica em frutas, vegetais e óleos insaturados), ingerida na pré-concepção, pode incrementar o sucesso da fertilização *in vitro* (FIV), segundo estudo em que houve o aumento da probabilidade de gestação em mulheres após a FIV (VUJKOVIC et al., 2010; TWIGT et al., 2012). Sob outra perspectiva, Mortensen et al. (2012) demonstraram que a nutrição pré-concepcional pode influenciar características corporais na prole, e fêmeas de camundongos alimentadas com uma dieta de baixa proteína por oito semanas antes da concepção, tiveram filhotes com aumento no depósito de gordura e alterações nas dimensões do sistema digestivo. A proteína dietética em ratos, durante a gestação ou lactação, afeta as concentrações plasmáticas de colesterol e triacilgliceróis na prole, pois os estágios pré e pós-natal são períodos sensíveis para a programação nutricional (OZANNE et al., 2004). Porém, ainda não há um consenso se a dieta realmente influencia o metabolismo do colesterol nos folículos ao ponto de afetar a fertilidade, mas já se sabe que os níveis de colesterol e HDL, no soro, são semelhantes aos encontrados no fluido folicular, mesmo que em menores concentrações (VALCKX et al., 2012).

Existe uma alta concentração de lipoproteínas, triglicérides e ácidos graxos livres no fluido folicular; no entanto, não se sabe até que ponto o

metabolismo desses lipídeos no líquido folicular fornece ATP para as células do *cumulus* e/ou oócito (DUNNING et al., 2014). Em contrapartida, alguns autores relataram que a composição de ácidos graxos no fluido folicular difere da encontrada no plasma e que, no caso do folículo, depende, principalmente, da atividade estrogênica (RENAVILLE et al., 2010; ATANASOV et al., 2016). Efetivamente, os folículos possuem seu próprio metabolismo e composição lipídica, não retratando, obrigatoriamente, a composição plasmática (BENDER et al., 2010; ATANASOV et al., 2016). Provavelmente, as alterações nos níveis de ácidos graxos celulares causam modificações nas membranas, influenciando sua fluidez, e a exposição excessiva à gordura saturada dietética associa-se ao dano mitocondrial nos oócitos, o qual está relacionado à indução do estresse oxidativo (IGOSHEVA et al., 2010) e ao estresse do retículo endoplasmático (WU et al., 2012).

Possivelmente, as células do *cumulus* influenciam diretamente os níveis de triglicérides e/ou deposição de ácidos graxos no oócito, de forma semelhante ao que ocorre com o colesterol (SU et al., 2008). Em conformidade, observou-se que a maturação *in vitro* de oócitos bovinos na ausência de células do *cumulus*, resultou em diminuição intracelular no armazenamento de lipídios (AUCLAIR et al., 2013), propondo que, na ausência de metabólitos fornecidos pelas células do *cumulus*, o oócito apresenta menor capacidade de armazenamento lipídico (DUNNING et al., 2014).

É comprovado que o declínio da fertilidade feminina está relacionado à idade e à obesidade (MCEVOY et al., 2000; PURCELL E MOLEY, 2011), como também ao envelhecimento referente às mudanças nos perfis dos ácidos graxos, assim como na modificação de enzimas-chave do metabolismo lipídico (MCEVOY et al., 2000; DUA et al., 2013). Oócitos envelhecidos de várias espécies apresentam reduzida capacidade de bloqueio espermático, além de conteúdo lipídico alterado (WANG E SUN, 2007; HAO et al., 2009) e, essas alterações também estão associadas a uma variedade de doenças metabólicas (ZEHMER et al., 2009). Desta forma, a maquinaria molecular em torno das gotículas lipídicas regula a síntese, utilização e trânsito dos lipídios, desempenhando um papel crucial no metabolismo lipídico celular (SUZUKI et al., 2011). Como mencionado anteriormente, a qualidade do oócito e a capacidade de desenvolvimento do embrião estão altamente relacionadas com

a dinâmica das gotículas lipídicas. Portanto, os mecanismos moleculares que regulam o armazenamento lipídico podem ser ferramentas terapêuticas essenciais contra os distúrbios metabólicos relacionados à subfertilidade e à infertilidade (PRATES et al., 2014).

3.5 Programação Fetal

Embora o desenvolvimento inicial seja influenciado, principalmente, pela expressão gênica adquirida no momento da concepção, o ambiente em que o organismo se desenvolve limita a atuação genética; assim, a nutrição materna durante a gestação é de fundamental importância para o crescimento ideal do feto, sendo que a qualidade e quantidade da nutrição materna são fatores primordiais no desenvolvimento e na programação metabólica fetal (PATEL et al., 2005; EVANS et al., 2016). No entanto, o equilíbrio de uma nutrição ótima durante a gestação é um grande desafio no mundo todo para várias espécies (BELL E EHRHARDT, 2002). Múltiplos fatores genéticos e ambientais contribuem para a restrição do crescimento intrauterino e, embora o genoma fetal desempenhe um papel essencial, evidências crescentes sugerem que o ambiente intrauterino é o principal determinante para o crescimento no útero (BELL E EHRHARDT, 2002; EVANS et al., 2016). Por exemplo, em gestações gemelares, um bebê com retardo de crescimento tem maior probabilidade de desenvolver diabetes melito não dependente de insulina (tipo II) do que o irmão com crescimento fetal normal (PHILLIPS et al., 1994); logo, a nutrição desempenha um papel crítico no crescimento placentário e fetal (BARKER E CLARK, 1997).

A nutrição é um dos principais fatores ambientais envolvidos na programação fetal, em humanos e outras espécies animais, nos diversos estágios de desenvolvimento. Inúmeras pesquisas utilizaram uma variedade de desafios nutricionais, incluindo restrição nutricional hipocalórica (HAWKINS et al., 2001), isocalórica, restrição proteica (BERTRAM et al., 2001; ZAMBRANO et al., 2005, 2006; ZAMBRANO, 2009; TORRES et al., 2010; MORIMOTO et al., 2012) e nutrição hipercalórica (VICKERS et al., 2000; ZAMBRANO et al., 2010; RODRIGUEZ et al., 2012), evidenciando-se que a nutrição desempenha um papel fundamental na programação da capacidade reprodutiva da prole.

A nutrição fornecida através da placenta é extremamente importante para o crescimento fetal, porque permite que o feto atinja seu potencial de crescimento determinado pelo genótipo (EVANS et al., 2016; KWON E KIM, 2017). A placenta é uma grande fonte de peptídeos e hormônios secretados para a circulação materna e fetal (MYATT, 2006), além de fornecer uma interface imunológica entre mãe e feto (REYNOLDS et al., 2005b), a qual atua regulando o transporte de nutrientes maternos para o feto, sendo primordial ao seu desenvolvimento normal, também desempenha papel ativo na programação fetal no útero, podendo influenciar no surgimento de doenças na idade adulta (REYNOLDS et al., 2005a; REYNOLDS et al., 2005c; KWON E KIM, 2017). Muitas anormalidades estruturais placentárias, principalmente relacionadas aos leitos vasculares placentários e angiogênese, têm sido associadas à desnutrição materna (REYNOLDS et al., 2005b; MYATT, 2006; JANSSON E POWELL, 2007). Porém, os mecanismos e as adaptações placentárias em gestações complicadas, que são causados pela subnutrição materna, permanecem desconhecidos (LIU et al., 2018).

O estado nutricional da mãe envolve fatores como composição corporal, consumo alimentar materno, fluxo sanguíneo no útero e na placenta e genes fetais, de forma que o feto se adapta à desnutrição materna por meio de mudanças na produção de hormônios fetais e placentários, os quais regulam o metabolismo, redistribuem o fluxo sanguíneo e controlam seu crescimento (FOWDEN, 1995; O'BRIEN et al., 1999). Os mecanismos envolvidos nos efeitos placentários sobre a programação fetal incluem alterações no crescimento placentário e resistência vascular, metabolismo alterado de nutrientes e hormônios na placenta e alterações na transferência nutricional e fracionamento entre mãe, placenta e feto (GODFREY et al., 1999).

A função da placenta é atingida gradualmente, em uma série de estágios de desenvolvimento gestacionais programados, de forma que, esta divisão sequencial, pode levar ao desenvolvimento anormal de vasos placentários ou trofoblasto, e esse dano gerado pode levar à hipóxia materna e à nutrição anormal do embrião (KREBS et al., 1996). Conseqüentemente, de forma responsiva, a placenta muda sua atividade e expressão de transportadores para manter o crescimento fetal, resultando na regulação epigenética (JANSSON et al., 2002) ou na expressão gênica placentária (MYATT, 2006).

Durante o desenvolvimento embrionário, a hipóxia é, normalmente, fisiológica, e o tecido placentário comumente reside num ambiente relativamente hipóxico (GENBACEV et al., 1997).

A programação fetal pode afetar a expressão gênica do indivíduo em qualquer estágio, desde alterações nas funções biológicas moleculares, tais como na densidade ou sensibilidade das células receptoras, como em variações hormonais permanentes ou, mesmo, modificações no metabolismo ou em resposta a estressores fisiológicos, dentre elas mudanças na impressão gênica (metilação do DNA ou remodelação da cromatina), alterações celulares na densidade do receptor ou colapso metabólico de mensageiros, modificações estruturais dos órgãos (volume e composição tecidual) e reinicialização do sistema de eixos hormonais (CUNNINGHAM E CAMERON, 2003; WATERLAND E JIRTLE, 2004; EVANS et al., 2016).

A teoria conhecida como "Hipótese de Barker" estabelecida pelo epidemiologista britânico David Barker, caracteriza que as mudanças programadas durante o período pré-natal predis põem o feto a certos problemas ou doenças pós-natais (BARKER, 1998). Desta forma, esse período vulnerável coincide com o tempo de diferenciação celular rápida do embrião; portanto, um estímulo ou uma privação que ocorrer num ponto crucial no desenvolvimento intrauterino, pode sustentar ou provocar alterações ou enfermidades na fase adulta do indivíduo (KWON E KIM, 2017).

A resposta metabólica imediata do feto à desnutrição materna é consumir seu substrato para produzir energia através do catabolismo (HARDING E JOHNSTON, 1995). A desnutrição do feto causa dependência metabólica da glicose, usada para aumentar a oxidação de outros substratos, como aminoácidos e ácido láctico. Porém, quando ocorre de forma prolongada, pode resultar em atraso no crescimento, redução no uso do substrato e diminuição da taxa metabólica para melhorar a viabilidade fetal, e este processo metabólico de armazenamento de glicose se estende na idade adulta, podendo a resistência à insulina ser resultado de um processo similar, em que o decréscimo na taxa de oxidação nos tecidos periféricos, que são insensíveis à insulina, cria um aumento na resistência à insulina (WU et al., 2004).

A insulina fetal e o IGF desempenham um papel fundamental no controle do crescimento e, respondem rapidamente às mudanças na nutrição fetal

(FOWDEN, 1989). Um declínio na ingestão de alimento materno e a queda resultante no IGF materno, provavelmente, desencadeiam reduções nos níveis de insulina, IGF e glicose fetais, diminuindo a transferência de aminoácidos e glicose da mãe para o feto, levando ao retardo do crescimento fetal (OLIVER et al., 1993). Quando o feto tem disponibilidade limitada de nutrientes, o controle do crescimento via hormônios anabólicos, tais como IGF-1 e insulina, sofre redução, enquanto aumentam as concentrações dos hormônios catabólicos (como os glicocorticoides) (FOWDEN, 1995; KING, 2003).

A desnutrição materna gestacional reduz o crescimento placentário e fetal em animais domésticos e em humanos (BARKER E CLARK, 1997; BELL E EHRHARDT, 2002), e evidências sugerem que o crescimento fetal é mais suscetível à deficiência materna de proteínas e micronutrientes durante o período peri-implantação e o período de rápido desenvolvimento placentário (WU et al., 1998; WATERLAND E JIRTLE, 2004). Ratas que passaram por restrições proteicas durante a prenhez tiveram filhotes com mudanças significativas nas ilhotas pancreáticas, incluindo redução de sua vascularização, da capacidade proliferativa das células, e da resposta secretora de insulina a um estímulo de glicose (PETRY et al., 2001), assim como malformação de núcleos hipotalâmicos e comprometimento da capacidade metabólica do fígado, do músculo e do tecido adiposo na progênie adulta (PLAGEMANN et al., 2010).

A atividade metabólica da mitocôndria placentária causa estresse oxidativo mesmo em uma gestação normal, sendo intensificada pelo crescimento intrauterino retardado, pelo diabetes e pré-eclâmpsia (GIUGLIANO et al., 1996). Assim, a hipóxia e o estresse oxidativo modificam o desenvolvimento placentário e, essas alterações associadas à função placentária prejudicada, podem ser um dos mecanismos ocultos da programação fetal (MYATT, 2006).

Em contrapartida, a supernutrição materna pode levar ao retardo do crescimento placentário e fetal, aumento da mortalidade fetal e neonatal em ratos, suínos, ovinos e humanos (CASTRO E AVINA, 2002; WALLACE et al., 2003), como, também, induzir hipertensão na prole adulta (RASYID E BAKRI, 2016). A ingestão de dieta hiperlipídica pelas mães, pode levar ao aumento da pressão sanguínea, resistência à insulina, dislipidemia e obesidade nos filhos

(HOWELL E POWELL, 2017). Em ratas fêmeas, o consumo prolongado de dieta hiperlipídica acarreta aos filhotes machos maior peso corporal, aumento nos níveis plasmáticos da glicose, insulina, ácidos graxos livres, triglicérides e intolerância à glicose (ROZA et al., 2016). Já, ratas alimentadas com uma dieta rica em gordura, durante a gestação e a lactação, alcançaram maturação sexual precoce e proestro mais longo em sua prole feminina (SLOBODA et al., 2009; CONNOR et al., 2012).

Na maioria dos casos, a programação fetal é benéfica à saúde e sobrevivência do organismo; no entanto, a incompatibilidade normalmente ocorre quando indivíduos adaptados ao desenvolvimento num ambiente são expostos a outro (BATESON et al., 2004), tais como pessoas cujos pesos ao nascimento foram inferiores à média e, subseqüentemente, crescem com sobrepeso, desenvolvendo maior risco de hipertensão, diabetes tipo II e doença cardiovascular (GLUCKMAN E HANSON, 2004; KANAKA-GANTENBEIN, 2010). Em bovinos, a privação nutricional no início da gestação resulta em descendentes mais pesados em idades mais jovens, proporcionando maiores lucros financeiros, mas não necessariamente garantindo a saúde e a capacidade reprodutiva em longo prazo nos animais (RHIND et al., 2001).

As variações nutricionais, endócrinas e cardiovasculares no ambiente uterino podem influenciar a expressão do genoma fetal, acarretando adaptações de desenvolvimento, as quais podem resultar em uma vantagem inicial de sobrevivência do feto, porém, posteriormente, podem predispor às doenças degenerativas na vida pós-reprodutiva, levando a acreditar que, embora o genoma fetal possa determinar o potencial de desenvolvimento uterino, o crescimento realmente considerado é determinado, principalmente, pelos efeitos ambientais, tais como a nutrição fetal e hormonal (GODFREY E BARKER, 2001; GODFREY, 2002).

Desta forma, a desnutrição e a supernutrição materna atuam por meio de mecanismos distintos e contribuem para o aparecimento de efeitos reprodutivos adversos, podendo gerar o envelhecimento precoce que, possivelmente, reflete-se no esgotamento das reservas gonadais, as quais deveriam ser suficientes para manter a fertilidade durante toda a vida reprodutiva, ou seja, tanto a falta quanto o excesso nutricional durante a

gestação, geram consequências negativas ao desenvolvimento sexual dos filhotes (ZAMBRANO et al., 2014).

Portanto, dados experimentais em humanos e animais de laboratório indicam que vários distúrbios reprodutivos são influenciados por fatores intrauterinos e exposições pós-natais precoces, demonstrando que a saúde reprodutiva dos animais na vida adulta pode ser afetada por influências ambientais que atuam em distintos estágios de desenvolvimento embrionário, e são mediados por alterações no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (DAVIES E NORMAN, 2002).

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AARDEMA, H.; VOS, P.L.; LOLICATO, F.; ROELEN, B.A.; KNIJN, H.M.; VAANDRAGER, A.B.; HELMS, J.B.; GADELLA, B.M. Oleic acid prevents detrimental effects of saturated fatty acids on bovine oocyte developmental competence. **Biology of Reproduction**, v.85, p.62-69, 2011.

ABDO, M.; HISHEH, S.; DHARMARAJAN, A. Role of tumor necrosis factor- α and the modulating effect of the caspases in rat corpus luteum apoptosis. **Biology of Reproduction**, v.68, p.1241-1248, 2003.

ADRIAENS, I.; JACQUET, P.; CORTVRINDT, R.; JANSSEN, K.; SMITZ, J. Melatonin has dosedependent effects on folliculogenesis, oocyte maturation capacity and steroidogenesis. **Toxicology**, v.228, p.333-343, 2006.

AGARWAL, B.B. Signalling pathways of the TNF superfamily: a double-edged sword. **Nature Reviews Immunology**, v.3, p.745-756, 2003.

ALVARES, C.T.G.; CRUZ, J.F.; BRANDÃO, F.Z.; ROMANO, C.C.; MACIEL, B.M. The role of cytokines in immune regulation of female reproductive physiology. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v.24, p.118-124, 2017.

AMARAL, F.G. Perfil diário e os mecanismos de produção de melatonina pela glândula pineal de ratos diabéticos por estreptozotocina. **Tese (Doutorado em Fisiologia Humana) - Universidade São Paulo**, São Paulo, 181p., 2009.

ANNEMA, W.; TIETGE, U.J. Regulation of reverse cholesterol transport - a comprehensive appraisal of available animal studies. **Nutrition & Metabolism**, v.9, p.1-18, 2012.

ANISIMOV, V.N. Effects of exogenous melatonin - a review. **Toxicology and Pathology**, v.31, p.589-603, 2003.

ATANASOV, B.; HOSTENS, M.; HAJRULAI-MUSLIU, Z.; UZONOV, R.; ADAMOV, N.; DAVKOV, F.; VELEV, R.; OPSOMER, G.; DOVENSKI, T. Comparison of PUFA profiles in the blood and in follicular fluid and its association with follicular dynamics after PGF $_2\alpha$ induces luteolysis in dairy cows. **Macedonian Veterinary Review**, v.39, p.175-183, 2016.

ATHANASSAKIS, I.; ICONOMIDOU, B. Cytokine production in the serum and spleen of mice from day 6 to 14 of gestation: cytokines/placenta/spleen/sérum. **Developmental & Comparative Immunology**, v.4, p.247-255, 1996.

AUCLAIR, S.; UZBEKOV, R.; ELIS, S.; SANCHEZ, L.; KIREEV, I.; LARDIC, L.; DALBIES-TRAN, R.; UZBEKOVA, S. Absence of cumulus cells during in vitro maturation affects lipid metabolism in bovine oocytes. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v.304, p.599-613, 2013.

BAVARESCO, L. Role of viticultural factors on stilbene concentrations of grapes and wine. **Drugs Under Experimental and Clinical Research**, v.29, p.181-187, 2003.

BARKER, D.J. **Mothers, babies, and health in later life**. 2.ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1998.

BARKER, D.J.P.; CLARK, P.M. Fetal undernutrition and disease in later life. **Reproductive Biology**, v.2, p.105-112, 1997.

BATESON, P.; BARKER, D.; CLUTTON-BROCK, T.; DEB, D.; D'UDINE, B.; FOLEY, R.A.; GLUCKMAN, P.; GODFREY, K.; KIRKWOOD, T.; LAHR, M.M.; MCNAMARA, J.; METCALFE, N.B.; MONAGHAN, P.; SPENCER, H.G.; SULTAN, S.E. Developmental plasticity and human health. **Nature**, v.430, p.419-421, 2004.

BAZER, F.W.; SPENCER, T.E.; JOHNSON, G.A.; BURGHARDT, R.C.; WU, G. Comparative aspects of implantation. **Reproduction**, v.138, p.195-209, 2009.

BELL, A. W.; EHRHARDT, R. A. Regulation of placental nutrient transport and implications for fetal growth. **Nutrition Research Reviews**, v.15, p.211-230, 2002.

BENDER, K.; WALSH, S.; EVANS, A.C.; FAIR, T.; BRENNAN, L. Metabolite concentrations in follicular fluid may explain differences in fertility between heifers and lactating cows. **Reproduction**, v.139, p.1047-1055, 2010.

BERGER, J. A. Two-Clock Model of Circadian Timing in the Immune System of Mammals. **Pathologie Biologie**, v.56, p.286-291, 2008.

BERMAN, A.Y.; MOTECHIN, R.A.; WIESENFELD, M.Y.; HOLZ, M.K. The therapeutic potential of resveratrol: a review of clinical Trials. **Precision Oncology**, v.1, p.1-9, 2017.

BERTRAM, C.; TROWERN, A.R.; COPIN, N.; JACKSON, A.A.; WHORWOOD, C.B. The maternal diet during pregnancy programs altered expression of the glucocorticoid receptor and type 2 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase: potential molecular mechanisms underlying the programming of hypertension in utero. **Endocrinology**, v.142, p.2841-2853, 2001.

BISHAYEE, A.; DHIR, N. Resveratrol-mediated chemoprevention of diethylnitrosamine-initiated hepatocarcinogenesis: inhibition of cell proliferation and induction of apoptosis. **Chemico-Biological Interactions**, v.179, p.131-144, 2009.

BOOCOCK, D.J.; FAUST, G.E.S.; PATEL, K.R.; SCHINAS, A.M.; BROWN, V.A.; DUCHARME, P.M.; BOOTH, T.D.; CROWELL, A.; PERLOFF, M.; GESCHER, A.J.; STEWARD, W.P.; BRENNER, D.E. Phase I dose escalation pharmacokinetic study in healthy volunteers of

resveratrol, a potential cancer chemopreventive agent. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v.16, p.1246-1252, 2007.

BOURQUE, S.L.; DOLINSKY, V.W.; DYCK, J.R.B.; DAVIDGE, S.T. Maternal resveratrol treatment during pregnancy improves adverse fetal outcomes in a rat model of severe hypoxia. **Placenta**, v.33, p.449-452, 2012.

BOWEN, J.M.; KEYES, P.L.; WARREN, J.S.; TOWNSON, D.H. Prolactin-induced regression of the rat corpus luteum: expression of monocyte chemoattractant protein-1 and invasion of macrophages. **Biology of Reproduction**, v.54, p.1120-1127, 1996.

BRÄNNSTRÖM, M.; BONELLO, N.; WANG, L.J.; NORMAN, R.J. Effects of tumour necrosis factor alpha (TNF alpha) on ovulation in the rat ovary. **Reproduction, Fertility and Development**, v.7, p.67-73, 1995.

BROWNE, R.W.; SHELLY, W.B.; BLOOM, M.S.; OCQUE, A.J.; SANDLER, J.R.; HUDDLESTON, H.G.; FUJIMOTO, V.Y. Distributions of high-density lipoprotein particle components in human follicular fluid and sera and their associations with embryo morphology parameters during IVF. **Human Reproduction**, v.23, p.1884-1894, 2008.

BROWNE, R.W.; BLOOM, M.S.; SHELLY, W.B.; OCQUE, A.J.; HUDDLESTON, H.G.; FUJIMOTO, V.Y. Follicular fluid high density lipoprotein-associated micronutrient levels are associated with embryo fragmentation during IVF. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v.26, p.557-560, 2009.

CASTRO, L.C.; AVINA, R.L. Maternal obesity and pregnancy outcomes. **Current Opinion in Obstetrics and Gynecology**, v.14, p.601-606, 2002.

CEBRIÁN-PÉREZ, J.A., CASAO, A., GONZÁLEZ-ARTO, M., HAMILTON, T.R.S., PÉREZ-PÉ, R., MUIÑO-BLANCO, T. Melatonin in sperm biology: breaking paradigms. **Reproduction in Domestic Animals**, v.49, p.11-21, 2014.

CHABRA, A.; SHOKRZADEH, M.; NAGHSHVAR, F.; SALEHI, F.; AHMADI, A. Melatonin ameliorates oxidative stress and reproductive toxicity induced by cyclophosphamide in male mice. **Human & Experimental Toxicology**, v.33, p.185-195, 2014.

CHAHBOUNI, M.; ESCAMES, G.; VENEGAS, C.; SEVILLA, B.; GARCÍA, J.A.; LÓPEZ, L.C.; MUÑOZ-HOYOS, A.; MOLINA-CARBALLO, A.; ACUÑA-CASTROVIEJO, D. Melatonin treatment normalizes plasma pro-inflammatory cytokines and nitrosative/oxidative stress in patients suffering from Duchenne muscular dystrophy. **Journal of Pineal Research**, v.48, p.282-289, 2010.

CHAN, W.Y.; NG, T.B. Development of pre-implantation mouse embryos under the influence of pineal indoles. **Journal of Neural Transmission General Section**, v.96, p.19-29, 1994.

CHANG, G.O.; GAYSINSKAYA, V.; KARATAYEV, O.; LEIBOWITZ, S.F. Maternal high-fat diet and fetal programming: increased proliferation of hypothalamic peptide-producing neurons that increase risk for overeating and obesity. **Journal of Neuroscience**, v.28, p.107-119, 2008.

CHATTERJEE, P.; CHIASSON, V.L.; KOPRIVA, S.E.; YOUNG, K.J.; CHATTERJEE, V.; JONES, K.A.; MITCHELL, B.M. Interleukin 10 deficiency

exacerbates toll-like receptor 3-induced preeclampsia-like symptoms in mice. **Hypertension**, v.58, p.489-496, 2011.

CHATTERJEE, P.; CHIASSON, V.L.; BOUNDS, K.R.; MITCHELL, B.M. Regulation of the anti-inflammatory cytokines interleukin-4 and interleukin-10 during pregnancy. **Frontiers in Immunology**, v.5, p.1-6, 2014.

CHEN, Y.C.; SHEEN, J.M.; TIAO, M.M.; TAIN, Y.L.; HUANG, L.T. Roles of melatonin in fetal programming in compromised pregnancies. **International Journal of Molecular Sciences**, v.14, p.5380-5401, 2013.

CHENG, S-B.; SHARMA, S. Interleukin- A Pleiotropic Regulator in Pregnancy. **American Journal of Reproductive Immunology**, v.73, p.487-500, 2015.

CHRISTENSON, L.K.; DEVOTO, L. Cholesterol transport and steroidogenesis by the corpus luteum. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v.1, p.1-9, 2003.

CIPOLLA-NETO, J.; SKORUPA, A.L.; RIBEIRO-BARBOSA, E.R.; BARTOL, I.; MOTA, S.R.; AFECHE, S.C.; DELAGRANGE, P.; GUARDIOLA-LEMAITRE, B.; CANTERAS, N.S. The role of the retrochiasmatic área in the control of pineal metabolism. **Neuroendocrinology**, v.69, p.97-104, 1999.

CIPOLLA-NETO, J.; AFECHE, S.C. Glândula Pineal. In: AIRES, M.M (Ed.) **Fisiologia 3.ed.** Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, p.981-990, 2008.

CLARK, J.; VAGENAS, P.; PANESAR, M.; COPE, A.P. What does tumor necrosis factor excess do to the immune system long term? **Annals of Rheumatic Diseases**, v.64, p.70-76, 2005.

CLAUSTRAT, B.; BRUN, J.; CHAZOT, G. The basic physiology and pathophysiology of melatonin. **Sleep Medicine Reviews**, v.9, p.11-24, 2005.

COICO, R.S. Geoffrey. **Imunologia**, 6.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 404p., 2010.

COLIC, M.; VASILIJIC, S.; GAZIVODA, D.; VUCEVIC, D.; MARJANOVIC, M.; LUKIC, A. Interleukin-17 plays a role in exacerbation of inflammation within chronic periapical lesions. **European Journal of Oral Sciences**, v.115, p.315-320, 2007.

CONNOR, K.L.; VICKERS, M.H.; BELTRAND, J.; MEANEY, M.J.; SLOBODA, D.M. Nature, nurture or nutrition? Impact of maternal nutrition on maternal care, offspring development and reproductive function. **Journal of Physiology**, v.590, p.2167-2180, 2012.

COSTA-SILVA, J.H., SIMOES-ALVES, A.C., FERNANDES, M.P. Developmental origins of cardiometabolic diseases: Role of the maternal diet. **Frontiers in Physiology**, v.7, p.1-8, 2016.

CROFT, M. The role of TNF superfamily members in T-cell function and diseases. **Nature Reviews Immunology**, v.9, p.271-285, 2009.

CUI, L.L.; YANG, G.; PAN, J.; ZHANG, C. Tumor necrosis factor alpha knockout increases fertility of mice. **Theriogenology**, v.75, p.867-876, 2011.

CUNNINGHAM S, CAMERON IT. Consequences of fetal growth restriction during childhood and adult life. **Current Obstetrics & Gynaecology**, v.13, p.212-217, 2003.

- CUTOLO, M., SULLI, A., VILLAGGIO, B., SERIOLO, B., ACCARDO, S. Relation between steroid hormones and cytokines in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v.57, p.573-577, 1998.
- DAHM-KAHLER, P.; GHAREMANI, M.; LIND, A.K.; SUNDFELDT, K.; BRÄNNSTRÖM, M. Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), its receptor, and macrophages in the perfollicular stroma during the human ovulatory process. **Fertility and Sterility**, v.91, p.231-239, 2009.
- DAIR, E.L.; SIMOES, R.S.; SIMOES, M.J.; ROMEU, L.R.; OLIVEIRA-FILHO, R.M.; HAIDAR, M.A.; BARACAT, E.C.; SOARES, J.M.JR. Effects of melatonin on the endometrial morphology and embryo implantation in rats. **Fertility and Sterility**, v.89, p.1299-1305, 2008.
- DAVIES, M.J.; NORMAN, R.J. Programming and reproductive functioning. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v.13, p.386-392, 2002.
- DEKEL, N.; GNAINSKY, Y.; GRANOT, I.; RACICOT, K.; MOR, G. The role of inflammation for a successful implantation. **American Journal of Reproductive Immunology**, v.72, p.141-147, 2014.
- DELLA TORRE, E.; MATTOO, H. MAHAJAN, V.S.; CARRUTHERS, M.; PILLAI, S.; STONE, J.H. Prevalence of atopy, eosinophilia, and IgE elevation in IgG4-related disease. **Allergy**, v.69, p.269-272, 2014.
- DESHMANE, S.L.; KREMLEV, S.; AMINI, S; SAWAYA, B.E. Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1): An overview. **Journal of Interferon & Cytokine Research**, v.29, p.313-326, 2009.
- DE LIMA, L.M.; REIS, L.C.; DE LIMA, M.A. Influence of the pineal gland on the hysiology, morphometry and morphology of pancreatic islets in rats. **Brazilian Journal of Biology**, v.61, p.333-340, 2001.
- DE VRIES, K.; STRYDOM, M.; STEENKAMP, V. Bioavailability of resveratrol: Possibilities for enhancement. **Journal of Herbal Medicine**, v.11, p.71-77, 2018.
- DING, J.; KANG, Y.; FAN, Y.; CHEN, Q. Efficacy of resveratrol to supplement oral nifedipine treatment in pregnancy-induced preeclampsia. **Endocrine Connections**, v.6, p.595-600, 2017.
- DUA, M.; BHATIA, V.; MALIK, S.; PRAKASH, V. ART outcome in young women with premature ovarian aging. **Journal of Midlife Health**, v.4, p.230-232, 2013
- DUBICKE, A.; FRANSSON, E.; CENTINI, G.; ANDERSSON, E.; BYSTRÖM, B.; MALMSTRÖM, A.; PETRAGLIA, F.; SVERREMARK-EKSTRÖM, E.; EKMAN-ORDEBERG, G. Pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in human preterm and term cervical ripening. **Journal of Reproductive Immunology**, v.84, p.176-185, 2010.
- DUBOCOVICH, L.; RIVIERA-BERMUDEZ, M.A.; GERDIN, M.J.; MASANA, M.I. Molecular pharmacology, regulation and function of mammalian melatonin receptors. **Frontiers in Bioscience**, v.8, p.1093-1108, 2003.
- DUNNING, K.R.; CASHMAN, K.; RUSSELL, D.L.; THOMPSON, J.G.; NORMAN, R.J.; ROBKER, R.L. Beta-oxidation is essential for mouse oocyte

developmental competence and early embryo development. **Biology of Reproduction**, v.83, p.909-918, 2010.

DUNNING, K.R.; RUSSELL, D.L.; ROBKER, R.L. Lipids and oocyte developmental competence: the role of fatty acids and β -oxidation. **Reproduction**, v.148, p.15-27, 2014.

EL-FAR, M.; EL-SAYED, I.H.; EL-MOTWALLY, A.E.; HASHEM, I.A.; BAKRY, N. Serum levels of TNF-alpha and antioxidant enzymes and placental TNF-alpha expression in unexplained recurrent spontaneous miscarriage. **Journal of Physiology and Biochemistry**, v.65, p.175-181, 2009.

EL-SHAZLY, S.; MAKHSEED, M.; AZIZIEH, F.; RAGHUPATHY, R. Increased expression of proinflammatory cytokines in placentas of women undergoing spontaneous preterm delivery or premature rupture of membranes. **American Journal of Reproductive Immunology**, v.52, p.45-52, 2004.

ERICKSON, J.F.; SCHREIBER, J.R. Morphology and physiology of the ovary. **Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism**, v.1 p.918-934, 2001.

ESTAMPADOR, A.C.; FRANKS, P.W. Genetic and epigenetic catalysts in early-life programming of adult cardiometabolic disorders. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity**, v.7, p.575-586, 2014.

EVANS, N.P.; BELLINGHAM, M.; ROBINSON, J.E. Prenatal programming of neuroendocrine reproductive function. **Theriogenology**, v.86, p.340-348, 2016.

FAN, C-Y., PAN, J.; CHU, R.; LEE, D.; KLUCKMAN, K.D.; USUDA, N.; SINGH, I.; YELDANDI, A.V.; RAO, M.S.; MAEDA, N.; REEDY, J.K. Hepatocellular and hepatic peroxisomal alterations in mice with a disrupted peroxisomal fatty acyl-coenzyme A oxidase gene. **The Journal of Biological Chemistry**, v.271, p.24698-24710, 1996.

FAN, E.; ZHANG, L.; JIANG, S.; BAI, Y. Beneficial effects of resveratrol on atherosclerosis. **Journal of Medicinal Food**, v.11, p.610-614, 2008.

FARZAEI, M.H.; BAHRAMSOLTANI, R.; RAHIMI, R. Phytochemicals as adjunctive with conventional anticancer therapies. **Current Pharmaceutical Design**, v.22, p.4201-4218, 2016.

FERGUSON, E.M.; LEESE, H.J. Triglyceride content of bovine oocytes and early embryos. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.116, p.373-378, 1999.

FINDLAY, J.K.; KERR, J.B.; BRITT, K.; LIEW, S.H.; SIMPSON, E.R.; ROSAIRO, D.; DRUMMOND, A. Ovarian physiology: follicle development, oocyte and hormone relationships. **Animal Reproduction**, v.6, p.16-19, 2009.

FONTANA, R.; DELLA TORRE, S. The deep correlation between energy metabolism and reproduction: A view on the effects of nutrition for women fertility. **Nutrients**, v.11, 34p., 2016.

FOWDEN, A.L. The role of insulin in prenatal growth. **Journal of Developmental Physiology**, v.12, p.173-182, 1989.

FOWDEN, A.L. Endocrine regulation of fetal growth. **Reproduction, Fertility and Development**, v.7, p.351-363, 1995.

FRANCO, J.G.; DIAS-ROCHA, C.P.; FERNANDES, T.P.; ALBUQUERQUE MAIA, L.; LISBOA, P.C.; MOURA, E.G.; PAZOS-MOURA, C.C.; TREVENZOLI, I.H. Resveratrol treatment rescues hyperleptinemia and improves hypothalamic leptin signaling programmed by maternal high-fat diet in rats. **European Journal of Nutrition**, v.55, p.601-610, 2016.

FRANKEL, E.N.; WATERHOUSE, A.L.; TEISSEDRE, P.L. Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.43, p.519-525, 1995.

FRÉMONT, L. Biological effects of resveratrol. **Life Science**, v.66, p.663-673, 2000.

FUJIMOTO, V.Y.; KANE, J.P.; ISHIDA, B.Y.; BLOOM, M.S.; BROWNE, R.W. High-density lipoprotein metabolism and the human embryo. **Human Reproduction Update**, v.16, p.20-38, 2010.

GALVÃO, A.M., FERREIRA-DIAS, G., SKARZYNSKI, D.J. Cytokines and angiogenesis in the corpus luteum. **Mediators of Inflammation**, v.2013, p.1-11, 2013.

GAMBINI, J.; INGLÉS, M.; OLASO, G.; LOPEZ-GRUESO, R.; BONET-COSTA, V.; GIMENOMALLENCH, L.; MAS-BARGUES, C.; ABDELAZIZ, K. M.; GOMEZ-CABRERA, M. C.; VINA, J.; BORRAS, C. Properties of Resveratrol: In Vitro and In Vivo Studies about Metabolism, Bioavailability, and Biological Effects in Animal Models and Humans. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v.2015, p.1-13, 2015.

GARDINER, T.A., GIBSON, D.S., DE GOOYER, T.E., DE LA CRUZ, V.F., MCDONALD, D.M., STITT, A.W. Inhibition of tumor necrosis factor-alpha improves physiological angiogenesis and reduces pathological neovascularization in ischemic retinopathy. **The American Journal of Pathology**, v.166, p.637-644, 2005.

GENBACEV, O.; ZHOU, Y.; LUDLOW, J.W.; FISHER, S.J. Regulation of human placental development by oxygen tension. **Science**, v.277, p.1669-1672, 1997.

GIUGLIANO, D.; CERIELLO, A.; PAOLISSO, G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. **Diabetes Care**, v.19, p.157-167, 1996.

GLYNN, D.J., SHARKEY, D.J., ROBERTSON, S.A. Interferon-gamma inhibits female reproductive tract responsiveness to seminal plasma. **Biology of Reproduction**. In 'Society for Study of Reproduction, 37th Annual Meeting'. Vancouver, British Columbia, Canada, 242p., 2004.

GODFREY, K.M. The Role of the Placenta in Fetal Programming- A Review. **Placenta**, v.23, p.20-27, 2002. 2002.

GODFREY, K.M.; BARKER, D.J.P. Fetal programming and adult health. **Public Health Nutrition**, v.4, p.611-624, 2001.

GODFREY, K.M.; BREIER, B.H.; COOPER, C. Constraint of the maternoplacental supply of nutrients: causes and consequences. In Fetal Programming: Influences on Development and Disease in Later Life- O'BRIEN,

P.M.S.; WHEELER, T.; BARKER, D.J.P. **Royal College of Obstetricians and Gynaecologists**, p.283-298, 1999.

GLUCKMAN, P.D.; HANSON, M.A. The developmental origins of the metabolic syndrome. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, v.15, p.183-187, 2004.

HALES, H.A.; PETERSON, C.M.; MITCHELL, M.D.; JONES, K.P.; HATASAKA, H.H.; POULSON, A.M. Tumor necrosis factor-alpha inhibits ovulation and steroidogenesis, but not prostaglandin production in the perfused rat ovary. **Journal of Society for Gynecologic Investigation**, v.1, p.59-64, 1994.

HALL, S. In vino vitalis? Compounds activate life-extending genes. **Science**, v.301, p.1165, 2003.

HAO, Z-D.; LIU, S.; WU, Y.; WAN, P.C.; CUI, M.S.; CHEN, H.; ZENG, S.M. Abnormal changes in mitochondria, lipid droplets, ATP and glutathione content, and Ca²⁺ release after electro-activation contribute to poor developmental competence of porcine oocyte during in vitro ageing. **Reproduction, Fertility and Development**, v.21, p.323-332, 2009.

HAQQI, T.M.; ANTHONY, D.D.; GUPTA, S.; AHMAD, N.; LEE, M.S.; KUMAR G.K.; MUKHTA, H. Prevention of collagen induced arthritis in mice by polyphenolic fraction from green tea. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.96, p.4524-4529, 1999.

HARDING, J.E., JOHNSTON, B.M. Nutrition and fetal growth. **Reproduction, Fertility and Development**, v.7, p.539-347, 1995.

HATTAR, S., LIAO, H.W., TAKAO, M., BERSON, D.M., YAU, K.W. Melanopsin-containing retinal ganglion cells: architecture, projections, and intrinsic photosensitivity. **Science**, v.295, p.1065-1070, 2002.

HAWKINS, P.; HANSON, M.A.; MATTHEWS, S.G. Maternal undernutrition in early gestation alters molecular regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the ovine fetus. **Journal of Neuroendocrinology**, v.13, p.855-861, 2001.

HAYASHIDA, K.; NANKI, T.; GIRSCHICK, H.; YAVUZ, S.; OCHI, T.; LIPSKY, P.E. Synovial stromal cells from rheumatoid arthritis patients attract monocytes by producing MCP-1 and IL-8. **Arthritis Research & Therapy**, v.3, p.118-126, 2001.

HE, C.; WANG, J.; LI, Y.; ZHU, K.; XU, Z.; SONG, Y.; SONG, Y.; LIU, G. Melatonin-related genes expressed in the mouse uterus during early gestation promote embryo implantation. **Journal of Pineal Research**, v.58, p.300-309, 2015.

HELLIWELL, R.J.; WILLIAMS, L.M. The development of melatonin-binding sites in the ovine fetus. **Journal of Endocrinology**, v.142, p.475-484, 1994.

HIRABAYASHI, H.; SATO, T.; KOHNO, S.; TANAKA, M.; KOBAYASHI, S.; OHTA, Y.; IGUCHI, T. Apoptotic cell death in artificially induced deciduoma of pseudo pregnant mice. **The Anatomical Record**, v.254, p.205-213, 1999.

HOSANG, K.; KNOKE, I.; KLAUDINY, J.; WEMPE, F.; WUTTKE, W.; SCHEIT, K.H. Porcine luteal cells express monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): analysis by polymerase chain reaction and cDNA cloning. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.199, p.962-968, 1994.

HOWELL, K.R.; POWELL, T.L. Effects of maternal obesity on placental function and fetal development. **Reproduction**, v.153 p.97-108, 2017.

HUETHER, G. The contribution of extrapineal site of melatonin synthesis to circulating melatonin levels in higher vertebrates. **Experientia**, v.49, p.665-670, 1993.

HUGHES, J.; KWONG, W.Y.; LI, D.; SALTER, A.M.; LEA, R.G.; SINCLAIR, K.D. Effects of omega-3 and -6 polyunsaturated fatty acids on ovine follicular cell steroidogenesis, embryo development and molecular markers of fatty acid metabolism. **Reproduction**, v.141, p.105-118, 2011.

HUMINIECKI, L., CHAN, H.Y., LUI, S., POULSOM, R., STAMP, G., HARRIS, A.L., BICKNELL, R. Vascular endothelial growth factor transgenic mice exhibit reduced male fertility and placental rejection. **Molecular Human Reproduction**, v.7, p.255-264, 2001.

IGOSHEVA, N.; ABRAMOV, A.Y.; POSTON, L.; ECKERT, J.J.; FLEMING, T.P.; DUCHEN, M.R.; MCCONNELL, J. Maternal diet-induced obesity alters mitochondrial activity and redox status in mouse oocytes and zygotes. **PLoS ONE**, v.5, 8p. 2010.

INFANTE, R. Polifenoles del vino y oxidabilidad de las lipoproteínas? Blanco o tinto? **Clínica e Investigación en Arteriosclerosis**, v.9, p.19-22, 1997.

ISHIZUKA, B.; KURIBAYASHI, Y.; MURAI, K.; AMEMIYA, A.; ITOH, M.T. The effect of melatonin on in vitro fertilization and embryo development in mice. **Journal of Pineal Research**, v.28, p.48-51, 2000.

ITOH, M.T.; ISHIZUKA B.; KURIBAYASHI Y.; AMEMIYA A.; SUMI, Y. Melatonin, its precursors, and synthesizing enzyme activities in the human ovary. **Molecular Human Reproduction**, v.5, p.402-408, 1999.

JAHNKE, G.; MARR, M.; MYERS, C.; WILSON, R.; TRAVLOS, G.; PRICE, C. Maternal and developmental toxicity evaluation of melatonin administered orally to pregnant Sprague-Dawley rats. **The Journal of Toxicological Sciences**, v.50, p.271-279, 1999.

JANG, J.Y., PARK, D., SHIN, S., JEON, J.H., CHOI, B.I., JOO, S.S.; HWANG, S.Y.; NAHM, S.S.; KIM, Y.B. Antiteratogenic effect of resveratrol in mice exposed in utero to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. **European Journal of Pharmacology**, v.591, p.280-283, 2008.

JANSSON, T.; EKSTRAND, Y.; BJÖRN, C.; WENNERGREN, M.; POWELL, T.L. Alterations in the activity of placental amino acid transporters in pregnancies complicated by diabetes. **Diabetes**, v.51, p.2214-2219, 2002.

JANSSON, T.; POWELL, T.L. Role of the placenta in fetal programming: underlying mechanisms and potential interventional approaches. **Clinical Science (Lond)**, v.113, p.1-13, 2007.

JASPARD, B.; FOURNIER, N.; VIEITEZ, G.; ATGER, V.; BARBARAS, R.; VIEU, C.; MANENT, J.; CHAP, H.; PERRET, B.; COLLET, X. Structural and functional comparison of HDL from homologous human plasma and follicular fluid. A model for extravascular fluid. Arteriosclerosis. **Thrombosis, and Vascular Biology**, v.17, p.1605-1613, 1997.

JAUNIAUX, E., GULBIS, B., SCHANDENE, L., COLLETTE, J., HUSTIN, J. Distribution of interleukin-6 in maternal and embryonic tissues during the first trimester. **Molecular Human Reproduction**, v.2, p.239-243, 1996.

JEANDET, P.; DOUILLET-BREUIL, A.C.; BESSIS, R.; DEBORD, S.; SBAGHI, M.; ADRIAN, M. Phytoalexins from the *Vitaceae*: biosynthesis, phytoalexin gene expression in transgenic plants, antifungal activity, and metabolism. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.2731-2741, 2002.

JIANG, J.Y.; CHEUNG, C.K.; WANG, Y.; TSANG, B.K. Regulation of cell death and cell survival gene expression during ovarian follicular development and atresia. **Frontiers in Bioscience**, v.8, p.222-237, 2003.

JIMENEZ-JORGE S, JIMENEZ-CALIANI AJ, GUERRERO JM, NARANJO MC, LARDONE PJ, CARRILLO-VICO A, OSUNA C, MOLINERO P. Melatonin synthesis and melatonin-membrane receptor (MT1) expression during rat thymus development: role of the pineal gland. **Journal of Pineal Research**, v.39, p.77-83, 2005.

KAIPIA, A.; HSUEH, A.J. Regulation of ovarian follicle atresia, **Annual Review of Physiology**, v.59, p.349-363, 1997.

KALKUNTE S, BOIJ R, NORRIS W, FRIEDMAN J, LAI Z, KURTIS J, LIM KH, PADBURY JF, MATTHIESEN L, SHARMA S. Sera from preeclampsia patients elicit symptoms of human disease in mice and provide a basis for an in vitro predictive assay. **The American Journal of Pathology**, v.177, p.2387-2398, 2010.

KANAKA-GANTENBEIN, C. Fetal origins of adult diabetes. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.1205, p.99-105, 2010.

KANDA, H.; TATEYA, S.; TAMORI, Y.; KOTANI, K.; HIASA, K.; KITAZAWA, R. et al. MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. **The Journal of Clinical Investigation**, v.116, p.1494-505, 2006.

KIM, J.Y.; KINOSHITA, M.; OHNISHI, M.; FUKUI, Y. Lipid and fatty acid analysis of fresh and frozen-thawed immature and in vitro matured bovine oocytes. **Reproduction**, v.122, p.131-138, 2001.

KING, J.C. The risk of maternal nutritional depletion and poor outcomes increases in early or closely spaced pregnancies. **The Journal of Nutrition**, v.133, p.1732-1736, 2003.

KOLLIAS, G.; KONTOYIANNIS, D. Role of TNF/TNFR in autoimmunity: specific TNF receptor blockade may be advantageous to anti-TNF treatments. **Cytokine & Growth Factor Reviews**. v.13, p.315-321, 2002.

KONG, X.X.; FU, Y.C.; XU, J.J.; ZHUANG, X.L.; CHEN, Z.G.; LUO, L.L. Resveratrol, an effective regulator of ovarian development and oocyte apoptosis. **Journal of Endocrinological Investigation**, v.34, p.374-381, 2011.

KORKMAZ, A.; REITER, R.J. Epigenetic regulation: A new research area for melatonin? **Journal of Pineal Research**, v.44, p.41-44, 2008.

KORKMAZ, A.; TOPAL, T.; TAN, D.X.; REITER, R.J. Role of melatonin in metabolic regulation. **Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders**, v.10, p.261-270, 2009.

KORKMAZ, A.; ROSALES-CORRAL, S.; REITER, R.J. Gene regulation by melatonin linked to epigenetic phenomena. **Gene**, v.503, p.1-11, 2012.

KREBS, C.; MACARA, L.M.; LEISER, R.; BOWMAN, A.W.; GREER, I.A.; KINGDOM, J.C. Intrauterine growth restriction with absent end-diastolic flow velocity in the umbilical artery is associated with maldevelopment of the placental terminal villous tree. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, v.175, p.1534-1542, 1996.

KUMAR, A.; MEHROTRA, S.; SINGH, G.; NARAYANAN, K.; DAS, G.K.; SONI, Y.K.; SINGH M.; MAHLA, A.S.; SRIVATAVA, N.; VERMA, M.R. Sustained delivery of exogenous melatonin influences biomarkers of oxidative stress and total antioxidant capacity in summer-stressed anestrus water buffalo (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, v.83, p.1402-1407, 2015.

KUSANO, K.F.; NAKAMURA, K.; KUSANO, H.; NISHII, N.; BANBA, M.; IKEDA, T.; HASHIMOTO, K.; YAMAMOTO, M.; FUJIO, H.; MIURA, A.; OHTA, K.; MORITA, H.; SAITO, H.; EMORI, T.; NAKAMURA, Y.; KUSANO, I.; OHE, T. Significance of the level of monocyte chemoattractant protein-1 in human atherosclerosis. **Circulation Journal**, v.68, p.671-676, 2004.

KWON, E.J.; KIM, Y.K. What is fetal programming? a lifetime health is under the control of in utero health. **Obstetrics & Gynecology Science**, v.60, p.506-519, 2017.

LAI, Z.; KALKUNTE, S.; SHARMA, S. A critical role of interleukin-10 in modulating hypoxia-induced preeclampsia-like disease in mice. **Hypertension**, v.57, p.505-514, 2011.

LAMBERT, J.D.; HONG, J.; YANG, G.; LIAO, J.; YANG, C.S. Inhibition of carcinogenesis by polyphenols: evidence from laboratory investigations. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.81, p.284-291, 2005.

LANGRISH, C.L.; MCKENZIE, B.S.; WILSON, N.J.; DE WAAL MALEFYT, R.; KASTELEI, R.A.; CUA, D.J. IL-12 and IL-23: master regulators of innate and adaptive immunity. **Immunological Reviews**, v.202, p.96-105, 2004.

LAPPAS, M.; MITTON, A.; LIM, R.; BARKER, G.; RILEY, C.; PERMEZEL, M. Sirt1 is a novel regulator of key pathways of human labor. **Biology of Reproduction**, v.84, p.167-178, 2011.

LEACH, C.M.; THORBURN, G.D. A comparison of the inhibitory effects of melatonin and indomethacin on platelet aggregation and thromboxane release. **Prostaglandins**, v.20, p.51-56, 1980.

LEESE, H.J. Metabolism of the preimplantation embryo: 40 years on. **Reproduction**, v.143, p.417-427, 2012.

LE GEOFF, D. Follicular fluid lipoproteins in the mare: evaluation of HDL transfer from plasma to follicular fluid. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1210, p.226-232, 1994.

LEMANCEWICZ, A.; URBAN, R.; URBAN, J.; SKOTNICKI, M.; KRETOWSKA, M.; SIERAKOWSKI, S. Evaluation of interleukin concentrations in amniotic fluid in preterm and term parturition and in oligohydramnios. **Medical Science Monitor**, v.7, p.924-927, 2001.

LEMOS, A.J.J.M. Administração associativa do cloridrato de metformina e melatonina na reversão da policistose ovariana e os efeitos sobre o fígado e reprodução em ratas albinas. **Tese (Doutorado em Biociência Animal) - Universidade Federal Rural de Pernambuco**, Recife, 131p., 2013.

LI, H.; WU, W.; ZHENG, Z.A.; CHE, C.T.; LI, Z.J.; XU, D.; WONG, C.C.M.; YE, C.G.; SUNG, J.; CHO, C.H.; WANG, M. 3,3',4,5,5'-Pentahydroxy-trans-stilbene, a resveratrol derivative, induces apoptosis in colorectal carcinoma cells via oxidative stress. **European Journal of Pharmacology**, v.637, p.55-61, 2010.

LIN, E.; CALVANO, S.E.; LOWRY, S.F. Inflammatory cytokines and cell response in surgery. **Surgery**, v.127, p.117-126, 2000.

LIN, Y.; LIU, X.; SHAN, B.; WU, J.; SHARMA, S.; SUN, Y. Prevention of CpG-induced pregnancy disruption by adoptive transfer of in vitro-induced regulatory T cells. **PLoS One**, v.9, p.1-9, 2014.

LIU, P.; LIANG, H.; XIA, Q.; LI, P.; KONG, H.; LEI, P.; TU, Z. Resveratrol induces apoptosis of pancreatic cancers cells by inhibiting miR-21 regulation of BCL-2 expression. **Clinical and Translational Oncology**, v.15, p.741-746, 2013.

LIU, Y.; LI, H.; SHA, Q.; HAI, R.; WANG, Y.; SONG, Y.; GAO, F. Effects of maternal undernutrition on the growth, development and antioxidant status of ovine placentome subtypes during late pregnancy. **Theriogenology**, v.110, p.96-102, 2018.

LOBOCCARO, J.M.A.; GALLOT, D.; LUMBROSO, S.; MOUZAT, K. Liver X Receptors and female reproduction: When cholesterol meets fertility! **Journal of Endocrinological Investigation**, v.36, p.55-60, 2013.

LUBOSHITZKY, R.; QUPTI, G.; ISHAY, A.; SHEN-ORR, Z.; FUTERMAN, B.; LINN, S. Increased 6-sulfatoxymelatonin excretion in women with polycystic ovary syndrome. **Fertility and Sterility**, v.76, p.506-510, 2001.

LUBOSHITZKY, R.; ISHAI, A.; SHEN-OR, Z.; HERER, P. Evaluation of the pituitary-adrenal axis in hyperandrogenic women with polycystic ovary syndrome. **Neuro Endocrinology Letters**, v.24, p.249-254, 2003.

LUO, Z.C.; FRASER, W.D.; JULIEN, P.; DEAL, C.L.; AUDIBERT, F.; SMITH, G.N.; XIONG, X.; WALKER, M. Tracing the origins of "fetal origins" of adult diseases: Programming by oxidative stress? **Medical Hypotheses**, v.66, p.38-44, 2006.

MACCHI, M.M.; BRUCE, J.N. Human pineal physiology and functional significance of melatonin. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v.25, p.177-195, 2004.

MAGANHIN, C.C.; CARBONEL, A.A.; HATTY, J.H.; FUCHS, F.P.; OLIVEIRA-JUNIOR, I.S.; SIMÕES, M.J.; SIMÕES, R.S.; BARACAT, E.C.; SOARES-JR., J.M. Efeitos da melatonina no sistema genital feminino: breve revisão. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.54, p.267-271, 2008.

MAHDI, A.A.; FATIMA, G.; DAS, S.K.; VERMA, N.S. Abnormality of circadian rhythm of serum melatonin and other biochemical parameters in fibromyalgia syndrome. **Indian Journal of Biochemistry & Biophysics**, v.48, p.82-87, 2011.

MAHDI, B.M. Role of some cytokines on reproduction. **Middle East Fertility Society Journal**, v.16, p. 220-223, 2011.

MAJIDINIA, M.; REITER, R.J.; SHAKOURI, S.K.; MOHEBBI, I.; RASTEGAR, M.; KAVIANI, M.; DARBAND, S.G.; JAHANBAN-ESFAHLAN, R.; NABAVI, S.M.; YOUSEFI, B. The multiple functions of melatonin in regenerative medicine. **Ageing Research Reviews**, v.45, p.33-52, 2018.

MALVASI, A.; KOSMAS, I.; MYNBAEV, O.A.; SPARIC, R.; GUSTAPANE, S.; GUIDO, M.; TINELLI, A. Can trans resveratrol plus d-chiro-inositol and myo-inositol improve maternal metabolic profile in overweight pregnant patients? **Clinical Therapeutics**, v.168, p.240-247, 2017.

MARGNI, R.A., ZENCLUSSEN, A.C. During pregnancy, in the context of a Th2-type cytokine profile, serum IL-6 levels might condition the quality of the synthesized antibodies. **American Journal of Reproductive Immunology**, v.46, p.181-187, 2001.

MARTEL, J.; OJCIUS, D.M.; CHANG, C.J.; LIN, C.S.; LU, C.C.; KO, Y.F.; TSENG, S.F.; LAI, H.C.; YOUNG, J.D. Anti-obesogenic and antidiabetic effects of plants and mushrooms. **Nature Reviews Endocrinology**, v.13, p.149-160, 2017.

MARZI, M., VIGANO, A., TRABATTONI, D., VILLA, M.L., SALVAGGIO, A., CLERICI, E., CLERICI, M. Characterization of type 1 and type 2 cytokine production profile in physiology and pathology human pregnancy. **Clinical and Experimental Immunology**, v.106, p.127-133, 1996.

MASANA, M.I.; SOARES, J.M.JR.; DUBOCOVICH, M.L. 17Beta-estradiol modulates hMT1 melatonin receptor function. **Neuroendocrinology**, v.8, p.87-95, 2005.

MATSUZUKA, T.; SAKAMOTO, N.; OZAWA, M.; USHITANI, A.; HIRABAYASHI, M.; KANAI, Y. Alleviation of maternal hyperthermia-induced early embryonic death by administration of melatonin to mice. **Journal of Pineal Research**, v.39, p.217-223, 2005.

MAYO, J.C.; SAINZ, R.M.; URIA, H.; ANTOLIN, I.; ESTEBAN, M.M.; RODRIGUEZ, C. Melatonin prevents apoptosis induced by 6-hydroxydopamine in neuronal cells: implications for Parkinson's disease. **Journal of Pineal Research**, v.24, p.179-192, 1998.

MCELHINNY, A.S.; DAVIS, F.C.; WARNER, C.M. The effect of melatonin on cleavage rate of C57BL/6 and CBA/Ca preimplantation embryos cultured *in vitro*. **Journal of Pineal Research**, v.21, p.44-48, 1996.

MCEWAN, M.; LINS, R.J.; MUNRO, S.K.; VINCENT, Z.L.; PONNAMPALAM, A.P.; MITCHELL, M.D. Cytokine regulation during the formation of the fetal-maternal interface: Focus on cell-cell adhesion and remodelling of the extra-cellular matrix. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v.20, p.241-249, 2009.

MCEVOY, T.G.; COULL, G.D.; BROADBENT, P.J.; HUTCHINSON, J.S.M.; SPEAKE, B.K. Fatty acid composition of lipids in immature cattle, pig and sheep oocytes with intact zona pelúcida. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.118, p.163-170, 2000.

MCKEEGAN, P.J.; STURMEY, R.G. The role of fatty acids in oocyte and early embryo development. **Reproduction, Fertility and Development**, v.24, p.59-67, 2011.

MCMILLEN, I.C.; NOWAK, R. Maternal pinealectomy abolishes the diurnal rhythm in plasma melatonin concentrations in the fetal sheep and pregnant ewe during late gestation. **Journal of Endocrinology**, v.120, p. 459-464, 1989.

MEHTA, A.K.; GRACIAS, D.T.; CROFT, M. TNF activity and T cells. **Cytokine**, v.101, p.14-18, 2016.

MENDEZ, N.; ABARZUA-CATALAN, L.; VILCHES, N.; GALDAMES, H.A.; SPICHIGER, C.; RICHTER, H.G.; VALENZUELA, G.J.; SERON-FERRE, M.; TORRES-FARFAN, C. Timed maternal melatonin treatment reverses circadian disruption of the fetal adrenal clock imposed by exposure to constant light. **PLoS One**, v.7, p.1-9, 2012.

MIETTINEN, H.E.; RAYBURN, H.; KRIEGER, M. Abnormal lipoprotein metabolism and reversible female infertility in HDL receptor (SR-BI) - deficient mice. **Journal of Clinical Investigation**, v.108, p.1717-1722, 2001.

MITCHELL, S.E.; ROBINSON, J.J.; KING, M.E.; MCKELVEY, W.A.C.; WILLIAMS, L.M. Interleukin 8 in the cervix of nonpregnant ewes. **Reproduction**, v.124, p.409-416, 2002.

MONTI, M.; ZANONI, M.; CALLIGARO, A.; KO, M.S.; MAURI, P.; REDI, C.A. Developmental arrest and mouse antral not-surrounded nucleolus oocytes. **Biology of Reproduction**, v.88, p.1-7, 2013.

MORENO, C.S.; ROGERO, S.O.; IKEDA, T.I.; CRUZ, A.S.; ROGERO, J.R. Resveratrol and radiation biological effects. **International Journal of Nutrology**, v.5, p.28-33, 2012.

MORIMOTO, S.; CALZADA, L.; SOSA, T.C.; REYES-CASTRO, L.A.; RODRIGUEZ-GONZALEZ, G.L.; MORALES, A.; NATHANIELSZ, P.W.; ZAMBRANO, E. Emergence of ageing-related changes in insulin secretion by pancreatic islets of male rat offspring of mothers fed a low-protein diet. **British Journal of Nutrition**, v.107, p.1562-1565, 2012.

MORITA, Y.; WADA-HIRAIKE, O.; YANO, T.; SHIRANE, A.; HIRANO, M.; HIRAIKE, H.; KOYAMA, S.; OISHI, H.; YOSHINO, O.; MIYAMOTO, Y.; SONE, K.; ODA, K.; NAKAGAWA, S.; TSUTSUI, K.; TAKETANI, Y. Resveratrol promotes expression of SIRT1 and StAR in rat ovarian granulosa cells: an implicative role of SIRT1 in the ovary. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v.23, p.10-14, 2012.

MORRISON, L.J.; MARCINKIEWICZ, J.L. Tumor necrosis factor alpha enhances oocyte/follicle apoptosis in the neonatal rat ovary. **Biology of Reproduction**, v.66, p.450-457, 2002.

MORTENSEN, E.L.; WANG, T.; MALTE, H.; RAUBENHEIMER, D.; MAYNTZ, D. Maternal preconceptional nutrition leads to variable fat deposition and gut dimensions of adult offspring mice (C57BL/6JBom). **International Journal of Obesity**, v.34, p.1618-1624, 2010.

MORTON, J.S.; RUEDA-CLAUSEN, C.F.; DAVIDGE, S.T. Mechanisms of endotheliumdependent vasodilation in male and female, young and aged

offspring born growth restricted. **American Journal of Physiology, Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v.298: p.930-938, 2010.

MURDOCH, W.J.; COLGIN, D.C.; ELLIS, J.A. Role of tumor necrosis factor-alpha in the ovulatory mechanisms of ewes. **Journal of Animal Science**, v.75, p.1601-1605, 1997.

MURPHY, S.P.; TAYADE, C.; ASHKAR, A.A.; HATTA, K.; ZHANG, J.; CROY, B.A. Interferon Gamma in Successful Pregnancies. **Biology of Reproduction**, v.80, p.848-859, 2009.

MYATT L. Placental adaptive responses and fetal programming. **The Journal of Physiology**, v.572, p.25-30, 2006.

NAHUM, R.; BRENNER, O.; ZAHALKA, M.A.; TRAUB, L.; QUINTANA, F.; MOROZ, C. Blocking of the placental immunomodulatory ferritin activates Th1 type cytokines and affects placenta development, fetal growth and the pregnancy outcome. **Human Reproduction**, v.3, p.715-722, 2004.

O'BRIEN, P.M.S.; WHEELER T.; BARKER, D.J.P. Fetal programming-influences on development and disease in later life. **Royal College of Obstetricians and Gynaecologists**, p.3-11, 1999.

OKATANI, Y.; OKAMOTO, K.; HAYASHI, K.; WAKATSUKI, A.; TAMURA, S.; SAGARA, Y. Maternal-fetal transfer of melatonin in pregnant women near term. **The Journal of Pineal Research**, v.25, p.129-345, 1998.

OLIVEIRA, C.M.B., SAKATA, R.K., ISSY, A.M., GEROLA, R.S. Citocinas e dor. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v.61, p.255-265, 2011.

OLIVEIRA, A.L.B.; MONTEIRO, V.V.S.; NAVEGANTES-LIMA, K.C.; REIS, J.F.; GOMES, R.S.; RODRIGUES, D.V.S.; GASPAS, S.L.F.; MONTEIRO, M.C. Resveratrol role in autoimmune disease-a mini-review. **Nutrients**, v.9, p.1-22, 2017.

OLIVER, M.H., HARDING, J.E., BREIER, B.H., EVANS, P.C., GLUCKMAN, P.D. Glucose but not a mixed amino acid infusion regulates plasma insulin-like growth factor-I concentrations in fetal sheep. **The Journal of Pediatric Research**, v.34, p.62-65, 1993.

OPPENHEIM, J.J. Cytokines, their Receptors and Signals. In: ROSE, N.R.; MACKAY, I.R. (Orgs.). **The Autoimmune Diseases**. 5.ed. San Diego, Academic Press, cap.16, p.229-241, 2014.

ORSI, N.M.; GOPICHANDRAN, N.; EKBOTE, U.V.; WALKER, J.J. Murine serum cytokines throughout the estrous cycle, pregnancy and post partum period. **Animal Reproduction Science**, v.96, p.54-65, 2006.

ORSI, N. M.; EKBOTE, U.V.; WALKER, J.J.; GOPICHANDRAN, N. Uterine and serum cytokine arrays in the mouse during estrus. **Animal Reproduction Science**, v. 100, p. 301-310, 2007.

OSADA, T.; WATANABE, G.; SAKAKI, Y.; TAKEUCHI, T. Puromycin-sensitive aminopeptidase is essential for the maternal recognition of pregnancy in mice. **Molecular Endocrinology**, v.15, p.882-893, 2001.

OZANNE, S.E.; LEWIS, R.; JENNINGS, B.J.; HALES, C.N. Early programming of weight gain in mice prevents the induction of obesity by a highly palatable diet. **Clinical Science**, v.106, p.141-145, 2004.

PAN, Q-H.; WANG, L.; LI, J-M. Amounts and subcellular localization of stilbene synthase in response of grape berries to UV irradiation. **Plant Science**, v.176, p.360-366, 2009.

PARK, S.J., AHMAD, F., PHILP, A., BAAR, K., WILLIAMS, T., LUO, H.; KE, H.; REHMANN, H.; TAUSSIG, R.; BROWN, A.L.; KIM, M.K.; BEAVEN, M.A.; BURGIN, A.B.; MANGANIELLO, V.; CHUNG, J.H. Resveratrol ameliorates aging-related metabolic phenotypes by inhibiting camp phosphodiesterases. **Cell**, v.148, p.421-433, 2012.

PATEL, M.S.; SRINIVASAN, M.; LAYCHOCK, S.G. Nutrient-Induced Maternal Hyperinsulinemia and Metabolic Programming in the Progeny In: Hornstra, G.; Uauy, R.; Yang, X.: The Impact of Maternal Nutrition on the Offspring. **Nestlé Nutrition Workshop Series Pediatric Program**, v.55, p.137-151, 2005.

PELTIER, M.R. Immunology of term and preterm labor. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v.1, p.1-11, 2003.

PENNY, L.A.; ARMSTRONG, D.G.; BAXTER, B.; HOGG, C.; KINDAHL, H.; BRAMLEY, T.; WATSON, E.D.; WEBB, R. expression of monocyte chemoattractant protein-1 in the bovine corpus luteum around the time of natural luteolysis. **Biology of Reproduction**, v.59, p.1464-1469, 1998.

PEREIRA, A.C., JESUS, N.R., LAGE, L.V., LEVY, R.A. Imunidade na gestação normal e na paciente com lúpus eritematoso sistêmico (LES). **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.45, p.134-140, 2005.

PERVAIZ, S. Resveratrol - from the bottle to the bedside? **Leukemia & Lymphoma**, v.40, p.491-498, 2001.

PETRY, C.J.; OZANNE, S.E.; HALES, C.N. Programming of intermediary metabolism. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v.185, p.81-91, 2001.

PFEFFER, M.; KORF, H.W.; WICHT, H. Synchronizing effects of melatonin on diurnal and circadian rhythms, **General and Comparative Endocrinology**, v.258, p.215-221, 2018.

PHILLIPS, D.W.; BARKER, D.J.P.; HALES, C.N.; FIRST, S.; OSMOND, C. Thinness at birth and insulin resistance. **Diabetologia**, v.37, p.150-154, 1994.

PIROLA, L.; FRÄJDÖ, S. Resveratrol: one molecule, many targets. **Life**, v.60, p.323-332, 2008.

PLAGEMANN, A.; ROEPKE, K.; HARDER, T.; BRUNN, M.; HARDER, A.; WITTRÖCK-STAAAR, M.; ZISKA, T.; SCHELLONG, K.; RODEKAMP, E.; MELCHIOR, K.; DUDENHAUSEN, J.W. Epigenetic malprogramming of the insulin receptor promoter due to developmental overfeeding. **Journal of Perinatal Medicine**, v.38, p.393-400, 2010.

PRATES, E.G.; NUNES, J.T.; PEREIRA, R.M. A role of lipid metabolism during cumulus-oocyte complex maturation: impact of lipid modulators to improve embryo production. **Mediators of Inflammation**, v.2014, p.1-11, 2014.

- PRINS, J.R.; GOMEZ-LOPEZ, N.; ROBERTSON, S.A. Interleukin-6 in pregnancy and gestational disorders. **Journal of Reproductive Immunology**, v.95, p.1-14, 2012.
- PURCELL, S.H.; MOLEY, K.H. The impact of obesity on egg quality. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v.28, p.517-524, 2011.
- RAEBURN, C.D.; SHEPPARD, F.; BARSNESS, K.A.; ARYA, J; HARKEN, A.H. Cytokines for surgeons. **The American Journal of Surgery**, v.183, p. 268-273, 2002.
- RASYID, H., BAKRI, S. Intra-uterine growth retardation and development of hypertension. **Acta Medica Indonesiana**, v.48, p.320-324, 2016.
- REID, J.G.; SIMPSON, N.A.; WALKER, R.G.; ECONOMIDOU, O.; SHILLITO, J.; GOOI, H.C.; DUFFY, S.R.; WALKER, J.J. The carriage of pro-inflammatory cytokine gene polymorphisms in recurrent pregnancy loss. **American Journal of Reproductive Immunology**, v.45, p.35-40, 2001.
- REINA, M.; BROCCIA, M.L.; MENEGOLA, E.; DI BLASIO, A.M.; VIGANÒ, P.; GIAVINI, E. Effects of Interleukin-12 Administration during the Pre- and Peri-Implantation Period on Mouse Embryofetal Development. **American Journal of Reproductive Immunology**, v.51, p.345-351, 2004.
- REITER, R.J. Static and extremely low frequency electromagnetic field exposure: Reported effects on the circadian production of melatonin. **Journal of Cellular Biochemistry**, v.51, p.394-403, 1993.
- REITER, R.J.; TAN, D.X.; GITTO, E.; SAINZ, R.M.; MAYO, J.C.; LEON, J.; MANCHESTER, L.C.; VIJAYALAXMI KILIC, E.; KILIC, U. Pharmacological utility of melatonin in reducing oxidative cellular and molecular damage. **Polish Journal of Pharmacology**, v.56, p.159-70, 2004.
- REITER, R.J.; TAN, D.X.; MANCHESTER, L.C.; PAREDES, S.D.; MAYO, J.C.; SAINZ, R.M. Melatonin and reproduction revisited. **Biology of Reproduction**, v.81, p.445-456, 2009.
- REITER, R.J.; TAN, D.X.; ROSALES-CORRAL, S.A.; MANCHESTER, L.C. The universal nature, unequal distribution and antioxidant functions of melatonin and its derivatives. **Mini-Reviews in Medical Chemistry**, v.13, p.373-384, 2013.
- REITER, R.J.; TAMURA, H.; TAN, D.X.; XU, X-Y. Melatonin and the circadian system: contributions to successful female reproduction. **Fertility and Sterility**, v.102, p.321-328, 2014a.
- REITER, R.J.; TAN, D.X.; KORKMAZ, A.; ROSALES-CORRAL, S. A. Melatonin and stable circadian rhythms optimize maternal, placental and fetal physiology. **Human Reproduction Update**, v.20, p.293-307, 2014b.
- RENAVILLE, B.; BACCIU, N.; COMIN, A.; MOTTA, M.; POLI, I.; VANINI, G.; PRANDI, A. Plasma and follicular fluid fatty acid profiles in dairy cows. **Reproduction in Domestic Animals**, v.45, p.118-121, 2010.
- REVEL, F.G.; MASSON-PÉVET, M.; PÉVET, P.; MIKKELSEN, J.D.; SIMONNEAUX, V. Melatonin controls seasonal breeding by a network of hypothalamic targets. **Neuroendocrinology**, v.90, p.1-14, 2009.

REYNOLDS, L.P.; BOROWICZ, P.P.; VONNAHME, K.A.; JOHNSON, M.L.; GRAZUL-BILSKA, A.T.; WALLACEB, J.M.; CATON, J.S.; REDMER, D. A. Animal models of placental angiogenesis. **Placenta**, v.26, p.689-708, 2005a.

REYNOLDS, L.P.; BIONDINI, M.E.; BOROWICZ, P.P.; VONNAHME, K.A.; CATON, J.S.; GRAZUL-BILSKA, A.T.; REDMER, D.A. Functional significance of developmental changes in placental microvascular architecture. **Endothelium**, v.12, p.11-19, 2005b.

REYNOLDS, L.P.; BOROWICZ, P.P.; VONNAHME, K.A.; JOHNSON, M.L.; GRAZUL-BILSKA, A.T.; REDMER, D.A.; CATON, J.S. Placental angiogenesis in sheep models of compromised pregnancy. **The Journal of Physiology**, v.565, p.43-58, 2005c.

RHIND, S.M.; RAE, M.T.; BROOKS, A.N. Effects of nutrition and environmental factors on the fetal programming of the reproductive axis. **Reproduction**, v.122, p.205-214, 2001.

RICE, A., CHARD, T. Cytokines in Implantation. **Cytokine and Growth Factor Reviews**, v.9, p.176-185, 1998.

RICHTER, H.G.; HANSELL, J.A.; RAUT, S.; GIUSSANI, D.A. Melatonin improves placental efficiency and birth weight and increases the placental expression of antioxidant enzymes in undernourished pregnancy. **Journal of Pineal Research**, v.46, p.357-364, 2009.

RIVERA, L.; MORÓN, R.; ZARZUELO, A.; GALISTEO, M. Long-term resveratrol administration reduces metabolic disturbances and lowers blood pressure in obese Zucker rats. **Biochemical Pharmacology**, v.15, p.1053-1063, 2009.

RIVKEES, S.A.; REPERT, S.M. Appearance of melatonin receptors during embryonic life in Siberian hamsters (*Phodopus sungorus*). **Brain Research**, v.568, p.345-349, 1991.

ROBERTS, J.M.; PEARSON, G.D.; CUTLER, J.A.; LINDHEIMER, M.D. Summary of the NHLBI Working Group on research on hypertension during pregnancy. **Journal Hypertension in Pregnancy**, v.22, p.109-127, 2003.

ROBERTS, V.H.; POUND, L.D.; THORN, S.R.; GILLINGHAM, M.B.; THORNBURG, K.L.; FRIEDMAN, J.E.; FRIAS, A.E.; GROVE, K.L. Beneficial and cautionary outcomes of resveratrol supplementation in pregnant nonhuman primates. **The FASEB Journal**, v.28, p.2466-2477, 2014.

ROBERTSON A. S.; CHIN, P.Y.; FEMIA, J.G.; BROWN, H.M. Embryotoxic cytokines-Potential roles in embryo loss and fetal programming, **Journal of Reproductive Immunology**, v.125, p.80-88, 2018.

RODRÍGUEZ, M.I.; ESCAMES, G.; LÓPEZ, L.C.; LÓPEZ, A.; GARCÍA, J.A.; ORTIZ, F.; ACUÑA-CASTROVIEJO, D. Chronic melatonin treatment reduces the age-dependent inflammatory process in senescence-accelerated mice. **Journal of Pineal Research**, v.42, p.272-279, 2007.

RODRIGUEZ, J.S.; RODRIGUEZ-GONZALEZ, G.L.; REYES-CASTRO, L.A.; IBANEZ, C.; RAMIREZ, A.; CHAVIRA, R.; LARREA, F.; NATHANIELSZ, P.W.; ZAMBRANO, E. Maternal obesity in the rat programs male offspring exploratory, learning and motivation behavior: prevention by dietary intervention

pre-gestation or in gestation. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v.30, p.75-81, 2012.

ROLLINS, B.J. Chemokines. **Blood**, v.90, p.909-928, 1997.

RONNBERG, L.; KAUPPILA, A.; LEPPALUOTO, J.; MARTIKAINEN, H.; VAKKURI, O. Circadian and seasonal variation in human preovulatory follicular fluid melatonin concentration. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v.71, p.492-496, 1990.

ROS, P.; DIAZ, F.; FREIRE-REGATILLO, A.; ARGENTE-ARIZON, P.; BARRIOS, V.; ARGENTE, J.; BARRIOS, V.; ARGENTE, J.; CHOWEN, J.A. Resveratrol intake during pregnancy and lactation modulates the early metabolic effects of maternal nutrition differently in male and female offspring. **Endocrinology**, v.59, p.810-825, 2017.

ROTHBLAT, G.H.; DE LA LLERA-MOYA, M.; ATGER, V.; KELLNER-WEIBEL, G.; WILLIAMS, D.L.; PHILLIPS, M.C. Cell cholesterol efflux: integration of old and new observations provides new insights. **The Journal of Lipid Research**, v.40, p.781-796, 1999.

ROZA, N.A.V.; POSSIGNOLO L.F.; PALANCH A.C.; GONTIJO J.A. Effect of long-term high-fat diet intake on peripheral insulin sensibility, blood pressure, and renal function in female rats. **Food & Nutrition Research**, v.60, p.1-10, 2016.

RUEDA-CLAUSEN, C.F.; DOLINSKY, V.W.; MORTON, J.S.; PROCTOR, S.D.; DYCK, J.R.; DAVIDGE, S.T. Hypoxia-induced intrauterine growth restriction increases the susceptibility of rats to high-fat diet-induced metabolic syndrome. **Diabetes**, v.60, p.507-516, 2011a.

RUEDA-CLAUSEN, C.F.; MORTON, J.S.; LOPASCHUK, G.D.; DAVIDGE, S.T. Long-term effects of intrauterine growth restriction on cardiac metabolism and susceptibility to ischaemia/reperfusion. **Cardiovascular Research**, v.90, p.285-294, 2011b.

RUS, V.; VIA, C.S. Cytokines in Systemic Lupus Erythematosus. In: TSOKOS, G.C.; GORDON, C.; SMOLEN, J.S. **Systemic Lupus Erythematosus, A Companion to Rheumatology**, 1.ed. Mosby, cap.12, p.109-120, 2007.

SADOWSKY, D.W.; YELLON, S.; MITCHELL, M.D.; NATHANIELSZ, P.W. Lack of effect of melatonin on myometrial electromyographic activity in the pregnant sheep at 138–142 days gestation (term = 147 days gestation). **Endocrinology**, v.128, p.1812-1818, 1991.

SAGRILLO-FAGUNDES, L.; SALUSTIANO, E.M.A; RUANO, R.; MARKUS, R.P.; VAILLANCOURT, C. Melatonin modulates autophagy and inflammation protecting human placental trophoblast from hypoxia/reoxygenation. **Journal of Pineal Research**, v.65, p.1-14, 2018.

SAKUMOTO, R.; OKUDA, K. Possible actions of tumor necrosis factor- α in ovarian function. **Journal of Reproduction and Development**, v.50, p.39-46, 2004.

SAMPAIO, R.V.; CONCEIÇÃO, D.S.B.; MOYSÉS, S.M.; SAMPAIO, L.F.S.; OHASHI, O.M. MT3 melatonin binding site, MT1 and MT2 melatonin receptors

are present in oocyte, but only MT1 is present in bovine blastocyst produced *in vitro*. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v.10, p.1-7, 2012.

SANDYK, R.; ANASTASIADIS, P.G.; ANNINOS, P.A.; TSAGAS, N. The pineal gland and spontaneous abortions: Implications for therapy with melatonin and magnetic field. **International Journal of Neuroscience**, v.62, p.243-250, 1992.

SARKAR, F.H.; LI, Y.; WANG, Z.; KONG, D. Cellular signaling perturbation by natural products. **Cellular Signaling**, v.21, p.1541-1547, 2009.

SARTIPY, P.; LOSKUTOFF, D.J. Monocyte chemoattractant protein 1 in obesity and insulin resistance. **PNAS**, v.100, p.7265-7270, 2003.

SASSON, R.; WINDER, N.; KEES, S.; AMSTERDAM, A. Induction of apoptosis in granulosa cells by TNF alpha and its attenuation by glucocorticoids involve modulation of Bcl-2. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.294, p.51-59, 2002.

SCALERA, G.; BENASSI, C.; PORRO, C.A. Pineal involvement in the alimentary behavior and taste preferences in the rat. **Physiology & Behavior**, v.48, p.97-101, 1990.

SCHRÖDER, G.; BROWN, J.W.S.; SCHRÖDER, J. Molecular analysis of resveratrol synthase: cDNA, genomic clones and relationship with chalconsynthase. **European Journal of Biochemistry**, v.172, p.161-169, 1988.

SELI, E.; BABAYEV, E.; COLLINS, S.C.; NEMETH, G.; HORVATH, T.L. C. Minireview: Metabolism of female reproduction: regulatory mechanisms and clinical implications. **Molecular Endocrinology**, v.28, p. 790-804, 2014.

SERAPHI, P.M.; SUMIDA, D.H.; NISHIDE, F.T.; LIMA, F.B.; CIPOLLA NETO, J.; MACHADO, U.F. A Glândula Pineal e o Metabolismo de Carboidratos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.44, p.331-338, 2000.

SFIKAKIS, P.P. The first decade of biologic TNF antagonists in clinical practice: lessons learned, unresolved issues and future directions. **Current Directions in Autoimmunity**, v.11, p.180-210, 2010.

SHALGI, R.; KRAICER, P.; RIMON, A.; PINTO, M.; SOFERMAN, N. Proteins of human follicular fluid: the blood–follicle barrier. **Fertility and Sterility**, v.24, p.429-434, 1973.

SHARMA, R.; SHARMA, N.K.; THUNGAPATHRA, M. Resveratrol regulates body weight in healthy and ovariectomized rats. **Nutrition & Metabolism**, v.14, p.1-6, 2017.

SHECHTER, R., LONDON, A., SCHWARTZ, M. Orchestrated leukocyte recruitment to immune-privileged sites: absolute barriers versus educational gates. **Nature Reviews Immunology**, v.13, p.206-218, 2013.

SHIRASUMA, K., NITTA, A., SINEENARD, J., SHIMIZU, T., BOLLWEIN, H., MIYAMOTO, A. Vascular and immune regulation of corpus luteum development, maintenance and regression in the cow. **Domestic Animal Endocrinology**, v.43, p.198-211, 2012.

SIEMANN; E.H.; CREASY, L.L. Concentration of the phytoalexin resveratrol in wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.43, p.49-52, 1992.

SILVA, C.M.B.; MACÍAS-GARCÍA, B.; MIRÓ-MORÁN, A.; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, L.; MORILLO-RODRÍGUEZ, A.; ORTEGA-FERRUSOLA, C.; GALLARDO-BOLAÑOS, J.M.; STILWELL, G.; TAPIA, J.A.; PEÑA, F.J. Melatonin reduces lipid peroxidation and apoptotic-like changes and stallion spermatozoa. **Journal of Pineal Research**, v.51, p.172-179, 2011.

SINGH, C.K., KUMAR, A., HITCHCOCK, D.B., FAN, D., GOODWIN, R., LAVOIE, H.A.; NAGARKATTI, P.; DIPETTE, D.J.; SINGH, U.S. Resveratrol prevents embryonic oxidative stress and apoptosis associated with diabetic embryopathy and improves glucose and lipid profile of diabetic dam. **Molecular Nutrition & Food Research**, v.55, p.1186-1196, 2011.

SIROTKIN, A.V. Cytokines: Signalling molecules controlling ovarian functions. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v.43, p.857-861, 2011.

SLOBODA, D.M.; HOWIE, G.J.; PLEASANTS, A.; GLUCKMAN, P.D.; VICKERS, M.H. Pre- and postnatal nutritional histories influence reproductive maturation and ovarian function in the rat. **PLoS One**, v.4, p.1-8, 2009.

SOLEAS; G.J.; DIAMANDIS, E.P.; GOLDBERG, D.M. "Wine as a biological fluid: history, production, and role in disease prevention." **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, v.11, p.287-313, 1997.

SOMMER, C.; WHITE, F. Cytokines, Chemokines, and Pain, n. In: BEAULIEU, P.; LUSSIER, D.; DICKENSON, AH. **Pharmacology of pain**. Seattle: IASP Press, p.279-302, 2010.

SORENSEN, T.L.; RANSOHOFF, R.M.; STRIETER, R.M.; SELLEBJERG, F. Chemokine CCL2 and chemokine receptor CCR2 in early active multiple sclerosis. **European of Journal Neurology**, v.11, p.445-449, 2004.

SOUZA, M.I.L.; URIBE-VELÁSQUEZ, L.F. O fator de necrose tumoral - α (TNF- α) na reprodução de fêmeas - Revisão de Literatura. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar**, v.11, p.47-53, 2008.

SPENCER, T.E.; BURGHARDT, R.C.; JOHNSON, G.A.; BAZER, F.W. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.537-550, 2004.

STURMEY, R.G.; LEESE, H.J. Energy metabolism in pig oocytes and early embryos. **Reproduction**, v.126, p.197-204, 2003.

STURMEY, R.G.; O'TOOLE, P.J.; LEESE, H.J. Fluorescence resonance energy transfer analysis of mitochondrial: lipid association in the porcine oocyte. **Reproduction**, v.132, p.829-837, 2006.

STURMEY, R.G.; REIS, A.; LEESE, H.J.; MCEVOY, T.G. Role of fatty acids in energy provision during oocyte maturation and early embryo development. **Reproduction in Domestic Animals**, v.3, p.50-58, 2009.

SU, K.P.; HUANG, S.Y.; CHIU, T.H.; HUANG, K.C.; HUANG, C.L.; CHANG, H.C.; PARIANTE, C.M. Omega-3 fatty acids for major depressive disorder during pregnancy: results from a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **The Journal of Clinical Psychiatry**, v. 69, p.644-651, 2008.

- SUGDEN, M.C.; HOLNESS, M.J. Gender-specific programming of insulin secretion and action. **Journal of Endocrinology**, v.175, p.757-767, 2002.
- SUGITA, K.; HAYAKAWA, S.; KARASAKI-SUZUKI, M.; HAGIWARA, H.; CHISHIMA, F.; ALEEMUZAMAN, S.; LI, J.A.; NISHINARITA, S.; YAMAMOTO, T. Granulocyte colony stimulation factor (G-CSF) suppresses interleukin (IL)-12 and/or IL-2 induced interferon (IFN)-gamma production and cytotoxicity of decidual mononuclear cells. **American Journal of Reproduction and Immunology**, v.50, p.83-89, 2003.
- SUN, A.Y.; SIMONYI, A.; SUN, G.Y. The “French Paradox” and beyond: neuroprotective effects of polyphenols. **Free Radical Biology & Medicine**, v.32, p.314-318, 2002.
- SUZUKI, M.; SHINOHARA, Y.; OHSAKI, Y.; FUJIMOTO, T. Lipid droplets: size matters. **Journal of Electron Microscopy**, v.60, p101-116, 2011.
- SVENSSON, L.; ARVOLA, M.; SÄLLSTRÖM, M.A.; HOLMDAHL, R.; MATTSSON, R. The Th2 cytokines IL-4 and IL-10 are not crucial for the completion of allogeneic pregnancy in mice. **American Journal of Reproductive Immunology**, v.51, p.3-7, 2001.
- SZKUDELSKI, T.; SZKUDELSKA, K. Resveratrol and diabetes: from animal to human studies. **Biochimica et Biophysica. Acta**, v.1852, p.1145-1154, 2015.
- TAMURA, H.; NAKAMUR, Y.; TERRON, M.P.; FLORES, L.J.; MANCHESTER, L.C.; TAN, D.X.; SUGINO, N.; REITER, R.J. Melatonin and pregnancy in the human. **Reproductive Toxicology**, v.25, p.291-303, 2008.
- TAMURA, H.; NAKAMURA, Y.; KORKMAZ, A.; MANCHESTER, L.C.; TAN, D.X.; SUGINO, N.; REITER, R.J. Melatonin and the ovary: physiological and pathophysiological implications. **Fertility and Sterility**, v.92, p.328-343, 2009.
- TAMURA, H.; TAKASAKI, A.; TAKETANI, T.; TANABE, M.; KIZUKA, F.; LEE, L.; TAMURA, I.; MAEKAWA, R.; AASADA, H.; YAMAGATA, Y.; SUGINO, N. The role of melatonin as an antioxidant in the follicle. **Journal of Ovarian Research**, v.5, p.1-9, 2012.
- TAN, D.X.; HARDELAND, R.; MANCHESTER, L.C.; PAREDES, S.D.; KORKMAZ, A.; SAINZ, R.M.; MAYO, J.C.; FUENTES-BROTO, L.; REITER, R.J. The changing biological roles of melatonin during evolution: from an antioxidant to signals of darkness, sexual selection and fitness. **Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society**, v.85, p.607-623, 2010.
- TAN, D.X.; HARDELAND, R.; MANCHESTER, L.C.; KORKMAZ, A.; MA, S.; ROSALES-CORRAL, S.; REITER, R.J. Functional roles of melatonin in plants, and perspectives in nutritional and agricultural science. **Journal of Experimental Botany**, v.63, p.577-597, 2012.
- TAN, D.X.; MANCHESTER, L.C.; LIU, X.Y.; ROSALES-CORRAL, S.A.; ACUNA-CASTROVIEJO, D.; REITER, R.J. Mitochondria and chloroplasts as the original sites of melatonin synthesis: a hypothesis related to melatonin's primary function and evolution in eukaryotes. **Journal of Pineal Research**, v.54, p.127-138, 2013.
- TEIXEIRA, A.A.C.; SIMÕES, M.J.; WANDERLEY-TEIXEIRA, V.; SOARES, J.R. Evaluation of the implantation in pinealectomized and/or submitted to the

constant illumination rats. **International Journal of Morphology**, v.22, p.189-194, 2004.

TERRANOVA, P.F. Potential roles of tumor necrosis factor- α in follicular development, ovulation, and the life span of the corpus luteum. **Domestic Animal Endocrinology**, v.14, p.1-15, 1997.

TERRANOVA, P.F.; RICE, V.M. Review: cytokine involvement in ovarian processes. **American Journal of Reproductive Immunology**, v.37, p.50-63, 1997.

THAXTON, J.E.; SHARMA, S. Interleukin-10: a multi-faceted agent of pregnancy, **American Journal of Reproductive Immunology**, v.63, 482-491, 2010.

THOMAS, L.; PURVIS, C.C.; DREW, J.E.; ABRAMOVICH, D.R.; WILLIAMS, L.M. Melatonin receptors in human fetal brain: 2-[¹²⁵I] iodomelatonin binding and MT1 gene expression. **Journal of Pineal Research**, v.33, p.218-224, 2002.

TIAN, X.Z.; WEN, Q.; SHI, J.M.; LIANG-WANG; ZENG, S.M.; TIAN, J.H.; ZHOU, G.B.; ZHU, S.E.; LIU, G.S. Effects of melatonin on in vitro development of mouse two-cell embryos cultured in HTF medium. **Endocrine Research**, v.35, p.17-23, 2010.

TORRES, N.; BAUTISTA, C.J.; TOVAR, A.R.; ORDAZ, G.; RODRIGUEZ-CRUZ, M.; ORTIZ, V.; GRANADOS, O.; NATHANIELSZ, P.W.; LARREA, F.; ZAMBRANO, E. Protein restriction during pregnancy affects maternal liver lipid metabolism and fetal brain lipid composition in the rat. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v.298, p.270-277, 2010.

TORRES-FARFAN, C.; VALENZUELA, F.J.; MONDACA, M.; VALENZUELA, G.J.; KRAUSE, B.; HERRERA, E.A.; RIQUELME, R.; LLANOS, A.J.; SERON-FERRE, M. Evidence of a role for melatonin in fetal sheep physiology: Direct actions of melatonin on fetal cerebral artery, brown adipose tissue and adrenal gland. **The Journal of Physiology**, v.586, p.4017-4027, 2008.

TOWNSON, D.H.; WARREN, J.S.; FLORY, C.M.; NAFATALIN, D.M.; KEYES, P.L. Expression of monocyte chemoattractant protein-1 in the corpus luteum of the rat. **Biology Reproduction**, v.54, p.513-520, 1996.

TRAN, H.T.; LIONG, S.; LIM, R.; BARKER, G.; LAPPAS, M. Resveratrol ameliorates the chemical and microbial induction of inflammation and insulin resistance in human placenta, adipose tissue and skeletal muscle. **PLoS One**, v.12, p.1-18, 2017.

TRELA, B.C.; WATERHOUSE, A.L. "Resveratrol: isomeric molar absorptivities and stability." **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.44, p.1253-1257, 1996.

TRUONG, V.L., JUN, M.; JEONG, W.S. Role of resveratrol in regulation of cellular defense systems against oxidative stress. **Biofactors**, v.44, p.36-49, 2017.

TWIGT, J.M.; BOLHUIS, M.E.; STEEGERS, E.A.; HAMMICHE, F.; VAN INZEN, W.G.; LAVEN, J.S.; STEEGERS-THEUNISSEN, R.P. The preconception diet is

associated with the chance of ongoing pregnancy in women undergoing IVF/ICSI treatment. **Human Reproduction**, v.27, p.2526-2531, 2012.

VADILLO-ORTEGA, F.; ESTRADA-GUTIERREZ, G. Role of matrix metalloproteinases in preterm labor. **British Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v.112, p.19-22, 2005.

VALCKX, S.D.; DE PAUW, I.; DE NEUBOURG, D.; INION, I.; BERTH, M.; FRANSEN, E.; BOLS, P.E.; LEROY, J.L. BMI-related metabolic composition of the follicular fluid of women undergoing assisted reproductive treatment and the consequences for oocyte and embryo quality. **Human Reproduction**, v.27, p.3531-3539, 2012.

VAN BLERKOM, J.; DAVIS, P.W.; LEE, J. ATP content of human oocytes and developmental potential and outcome after in-vitro fertilization and embryo transfer. **Human Reproduction**, v.10, p.415-424, 1995.

VAN MONTFOORT, A.P.A.; PLÖSCHA, T.; HOEKA, A.; TIETGE, U.J.F. Impact of maternal cholesterol metabolism on ovarian follicle development and fertility. **Journal of Reproductive Immunology**, v.104-105, p.32-36, 2014.

VAN MOURIK, M.S.; MACKLON, N.S.; HEIJNEN, C.J. Embryonic implantation: cytokines, adhesion molecules, and immune cells in establishing an implantation environment. **Journal of Leukocyte Biology**, v.85, p.4-19, 2009.

VICKERS, M.H.; BREIER, B.H.; CUTFIELD, W.S.; HOFMAN, P.L.; GLUCKMAN, P.D. Fetal origins of hyperphagia, obesity, and hypertension and postnatal amplification by hypercaloric nutrition. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v.279, p.83-87, 2000.

VIJAYALAXMI, T.C.R.JR.; REITER, R.J.; HERMAN, T.S. Melatonin: from basic research to cancer treatment clinics. **Journal of Clinical Oncology**, v.20, p.2575-2601, 2002.

VITAL REYES, V.S.; TÉLLEZ VELASCO, S.; HINOJOSA CRUZ, J.C.; ORTIZ ROMERO MDE, J.; CHAVARRÍA OLARTE, M.E.; REYES FUENTES, A. Serum levels of IL-1beta, IL-6 and TNF-alpha in infertile patients with ovarian dysfunction. **Ginecología y Obstetricia de México**, v.73, p.604-610, 2005.

VOICULESCU, S.E.; ZYGOUROPOULOS, N.; ZAHIU, C.D.; ZAGREAN, A.M. Role of melatonin in embryo fetal development. **Journal of Medicine and Life**, v.7, p.488-492, 2014.

VON WOLFF, M., THALER, C.J., STROWITZKI, T., BROOME, J., STOLZ, W., TABIBZADEH, S. Regulated expression of cytokines in human endometrium throughout the menstrual cycle: dysregulation in habitual abortion. **Molecular Human Reproduction**, v.6, 627-634, 2000.

VUJKOVIC, M.; DE VRIES, J.H.; LINDEMANS, J.; MACKLON, N.S.; VAN DER SPEK, P.J.; STEEGERS, E.A.; STEEGERS-THEUNISSEN, R.P. The preconception Mediterranean dietary pattern in couples undergoing in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection treatment increases the chance of pregnancy. **Fertility and Sterility**, v.94, p.2096-2101, 2010.

WALLACE, J. M., BOURKE, D. A., AITKEN, R. P., MILNE, J. S. & HAY, W. W. Placental glucose transport in growth-restricted pregnancies induced by

overnourished adolescent sheep. **The Journal of Physiology**, v.547, p.85-94, 2003.

WANG, Q.; SUN, Q-Y. Evaluation of oocyte quality: morphological, cellular and molecular predictors. **Reproduction, Fertility and Development**, v.19, p.1-12, 2007.

WANG, F.; TIAN, X.; ZHANG, L.; HE, C.; JI, P.; LI, Y.; TAN, D.; LIU, G. Beneficial effect of resveratrol on bovine oocyte maturation and subsequent embryonic development after *in vitro* fertilization. **Fertility and Sterility**, v.101, p.577-586, 2014.

WATERLAND, R.A.; JIRTLE, R.L. Early nutrition, epigenetic changes at transposons and imprinted genes, and enhanced susceptibility to adult chronic diseases. **Nutrition**, v.20, p.63-68. 2004.

WEEMS, C.W.; WEEMS, Y.S.; RANDEL, R.D. Prostaglandins and reproduction in female farm animals. **The Veterinary Journal**, v.171, p.206-228, 2006.

WIJAYAGUNAWARDANE, M. P. B.; MIYAMOTO, A. Tumor necrosis factor α system in the bovine oviduct: a possible mechanism for embryo transport. **Journal of Reproduction and Development**, v. 50, p. 57-62, 2004.

WILLNOW, T.E.; HAMMES, A.; EATON, S. Lipoproteins and their receptors in embryonic development: more than cholesterol clearance. **Development**, v.134, p.3239-3249, 2007.

WOO, M.M.M.; TAI, C.-J.; KANG, S.K.; NATHWANI, P.; PANG, S.F.; LEUNG, P.C.K. Direct action of melatonin in human granulosa-luteal cells. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.86, p.4789-4797, 2001.

WOOD, B.R.; CHERNENKO, T.; MATTHAUS, C.; DIEM, M.; CHONG, C.; BERNHARD, U.; JENE, C.; BRANDLI, A.A.; MCNAUGHTON, D.; TOBIN, M.J.; TROUNSON, A.; LACHAM-KAPLAN, O. Shedding new light on the molecular architecture of oocytes using a combination of synchrotron Fourier transform-infrared and Raman spectroscopic mapping. **Analytical Chemistry**, v.80, p.9065-9072, 2008.

WOOLLETT, L.A. Where does fetal and embryonic cholesterol originate and what does it do? **Annual Review of Nutrition**, v.28, p.97-114, 2008.

WU, G., POND, W. G., FLYNN, S. P., OTT, T. L., BAZER, F. W. Maternal dietary protein deficiency decreases nitric oxide synthase and ornithine decarboxylase activities in placenta and endometrium of pigs during early gestation. **The Journal of Nutrition**, v.128, p.2395-2402, 1998.

WU, G.; BAZER, F.W.; CUDD, T.A.; MEININGER, C.J.; SPENCER, T.E. Maternal nutrition and fetal development. **The Journal of Nutrition**, v.134, p.2169-2172, 2004.

WU, L.L.; DUNNING, K.R.; YANG, X.; RUSSELL, D.L.; LANE, M.; NORMAN, R.J.; ROBKER, R.L. HIGH-fat diet causes lipotoxicity responses in cumulus-oocyte complexes and decreased fertilization rates. **Endocrinology**, v.151, p.5438-5445, 2010.

WU, L.L.; RUSSELL, D.L.; NORMAN, R.J.; ROBKER, R. L. Endoplasmic reticulum (ER) stress in cumulus-oocyte complexes impairs pentraxin-3

secretion, mitochondrial membrane potential ($\Delta\Psi_m$), and embryo development. **Molecular Endocrinology**, v.26, p.562-573, 2012.

XIAO, X.; ZHENG, J. MicroRNAs: Crucial modulators of fetal epigenetic programming in nutrition and glucose metabolism. **Chinese Medical Journal**, v.127, p.3521-3523, 2014.

YAMAGUCHI, M., SAWADA, K., MIYAKE, A. Lipopolysaccharides selectively inhibit mouse placental lactogen-II secretion through stimulation of interleukin-1 alpha (IL-1 alpha) and IL-6 production. **Journal of Endocrinological Investigation**, v.19, p.415-421, 1996.

YAMAMOTO, Y.; KUWAHARA, A.; TANIGUCHI, Y.; YAMASAKI, M.; TANAKA, Y.; MUKAI, Y.; YAMASHITA, M.; MATSUZAKI, T.; YASUI, T.; IRAHARA, M. Tumor necrosis factor alpha inhibits ovulation and induces granulosa cell death in rat ovaries. **Reproductive Medicine and Biology**, v.14, p.107-115, 2015.

YANG, C.S.; LANDAU, J.M.; HUANG, M.T.; NEWMARK, H.L. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. **Annual Review of Nutrition**, v.21, p.381-406, 2001.

YANG, X.; DUNNING, K.R.; WU, L.L.; HICKEY, T.E.; NORMAN, R.J.; RUSSELL, D.L.; LIANG, X.; ROBKER, R.L. Identification of perilipin-2 as a lipid droplet protein regulated in oocytes during maturation. **Reproduction, Fertility, and Development**, v.22, p.1262-1271, 2010.

YAO, L.; WAN, J.; LI, H.; DING, J.; WANG, Y.; WANG, X.; LI, M. Resveratrol relieves gestational diabetes mellitus in mice through activating ampk. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v.13, p.1-7, 2015.

YELLON, S.M.; LONGO, L.D. Effect of maternal pinealectomy and reverse photoperiod on the circadian melatonin rhythm in the sheep and fetus during the last trimester of pregnancy. **Biology of Reproduction**, v.39, p.1093-1099, 1988.

YONEI, Y.; HATTORI, A.; TSUTSUI, K.; OKAWA, M.; ISHIZUKA, B. Effects of melatonin: basics studies and clinical applications. **Anti-aging medicine**, v.7, p.85-91, 2010.

YOSHIMOTO, M. Stabilization of enzymes through encapsulation in liposomes. **Methods in Molecular Biology**, v.679, p.9-18, 2011.

YU, W.; FU, Y.C.; WANG, W. Cellular and molecular effects of resveratrol in health and disease. **Journal of Cellular Biochemistry**, v.113, p.752-759, 2012.

ZAMBRANO, E. The transgenerational mechanisms in developmental programming of metabolic diseases. **Revista de Investigación Clínica**, v.61, p.41-52, 2009.

ZAMBRANO, E.; RODRIGUEZ-GONZALEZ, G.L.; GUZMAN, C.; GARCIA-BECERRA, R.; BOECK, L.; DIAZ, L.; MENJIVAR, M.; LARREA, F.; NATHANIELSZ, P.W. A maternal low protein diet during pregnancy and lactation in the rat impairs male reproductive development. **Journal of Physiology**, v.563, p.275-284, 2005.

ZAMBRANO, E.; BAUTISTA, C.J.; DEAS, M.; MARTINEZ-SAMAYOA, P.M.; GONZALEZ-ZAMORANO, M.; LEDESMA, H.; MORALES, J.; LARREA, F.;

NATHANIELSZ, P.W. A low maternal protein diet during pregnancy and lactation has sex- and window of exposure-specific effects on offspring growth and food intake, glucose metabolism and serum leptin in the rat. **Journal of Physiology**, v.571, p.221-230, 2006.

ZAMBRANO, E.; MARTINEZ-SAMAYOA, P.M.; RODRIGUEZ-GONZALEZ, G.L.; NATHANIELSZ, P.W. Dietary intervention prior to pregnancy reverses metabolic programming in male offspring of obese rats. **Journal of Physiology**, v.588, p.1791-1799, 2010.

ZAMBRANO, E.; GUZMÁN, C.B.; RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, G.L.A.A.; DURAND-CARBAJAL, M.A.; NATHANIELSZ, P.W. Fetal programming of sexual development and reproductive function. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v.382, p.538-549, 2014.

ZEHMER, J.K.; HUANG, Y.; PENG, G.; PU, J.; ANDERSON, R.G.W.; LIU, P. A role for lipid droplets in inter-membrane lipid traffic. **Proteomics**, v.9, p.914-921, 2009.

ZENCLUSSEN, A.C.; BLOIS, S.; STUMPO, R.; OLMOS, S.; ARIAS, K.; BOREL, I.M.; ROUX, M.E.; MARGNI, R.A. Murine abortion is associated with enhanced interleukin-6 levels at the feto-maternal interface. **Cytokine**, v.24, p.150-160, 2003.

ZHANG, J.M.; AN, J. Cytokines, inflammation, and pain. **International Anesthesiology Clinics**, v.45, p.27-37, 2007.

ZHANG, W.; YI, K.; YAN, H.; ZHOU, X. Advances on in vitro production and cryopreservation of porcine embryos. **Animal Reproduction Science**, v.132, p.115-122, 2012.

ZHAO, Y.; TAN, D.X.; LEI, Q.; CHEN, H.; WANG, L.; LI, Q.T.; GAO, Y.; KONG, J. Melatonin and its potential biological functions in the fruits of sweet cherry. **Journal of Pineal Research**, v.55, p.79-88, 2013.

ZHENG, J.; XIAO, X.; ZHANG, Q.; YU, M. DNA methylation: the pivotal interaction between early-life nutrition and glucose metabolism in later life. **British Journal of Nutrition**, v.112, p.1850-1857, 2014.

ZHU, X., WU, C., QIU, S.; YUAN, X.; LI, L. Effects of resveratrol on glucose control and insulin sensitivity in subjects with type 2 diabetes: Systematic review and meta-analysis. **Nutrition & Metabolism**, v.14, p.1-10, 2017.

ZOURBAS, S.; DUBANCHET, S.; MARTAL, J.; CHAOUAT, G. Localization of pro-inflammatory (IL-12, IL-15) and anti-inflammatory (IL-11, IL-13) cytokines at the foetomaternal interface during murine pregnancy. **Clinical & Experimental Immunology**, v.126, p.519-528, 2001.

CAPÍTULO 1 - SUPLEMENTAÇÃO DE FÊMEAS DE CAMUNDONGOS SWISS COM RESVERATROL OU MELATONINA SOBRE A LIBERAÇÃO DE CITOCINAS E DESEMPENHO REPRODUTIVO

O artigo a seguir está redigido de acordo com as exigências para publicação no periódico *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, excetuando-se o idioma.

Suplementação de fêmeas de camundongos SWISS com resveratrol ou melatonina sobre a liberação de citocinas e desempenho reprodutivo

LORENA DA ROSA BRANDÃO¹, ADRIANA C. GUERCIO MENEZES^{1,3}, AMANDA GODOI NAVAREZI³, KELY CRISTINA NEVES DOS SANTOS³, TAMY INGRID RESTEL³, LUCIANE CANDELORO PORTUGAL², RITA DE CÁSSIA AVELLANEDA GUIMARÃES⁴, ALBERT SCHIAVETO DE SOUZA², MARIA INÊS LENZ SOUZA^{1,2}

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Federal do Mato Grosso do Sul/UFMS
Av. Senador Filinto Muller, nº 2443, Vila Ipiranga, Caixa Postal 549. CEP 79074-460. Campo Grande – MS

²Instituto de Biociências - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul/UFMS
Cidade Universitária, Caixa Postal 549. CEP 79002-970. Campo Grande – MS

³Biotério Central do Instituto de Biociências - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul/UFMS
Av. Senador Filinto Muller, 1555, Vila Ipiranga. CEP: 79070-900. Campo Grande – MS

⁴Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul/UFMS
Cidade Universitária, Caixa Postal 549. CEP 79070-900. Campo Grande - MS

Key words: antioxidants, immune system, litter weight, sex, litter size, mouse

Academy section: Agrarian Sciences

Correspondence to: Lorena da Rosa Brandão
e-mail address: lorenarosa.vet@hotmail.com

RESUMO

Buscou-se determinar se os antioxidantes resveratrol e melatonina melhoram o desempenho reprodutivo de fêmeas de camundongos SWISS gestantes através do ganho de peso médio semanal, da liberação de citocinas dessas fêmeas F0 (interleucinas - IL-6, -10, -12, interferon - IFN- γ , proteína quimioatrativa de monócitos - MCP-1 e fator de necrose tumoral - TNF- α) e da prolificidade, através da mensuração do número e sexo de filhotes nascidos e do peso dos filhotes ao nascimento, desmame e 60 dias de idade. Utilizou-se 15 fêmeas com 40 dias de idade, as quais receberam os antioxidantes ou solução salina por meio de gavagem até 84 dias de idade, que correspondeu ao momento do parto, quando foi feita a contagem dos filhotes, verificação do sexo e pesagem individual. A colheita de sangue das fêmeas F0 para obtenção de soro e mensuração de citocinas ocorreu aos 40 dias de idade (momento pré-suplementação) e após o desmame da ninhada (momento pós-suplementação). As fêmeas F0 foram pesadas individualmente para mensuração do ganho de peso médio semanal. No momento pré-suplementação, apenas TNF- α mostrou-se elevado no grupo controle (C) em relação ao grupo tratado com resveratrol 10 mg (RV10), enquanto o grupo tratado com melatonina 5 mg (MT5), não diferiu dos demais. No entanto, isso não foi mantido no momento pós-suplementação. Fêmeas suplementadas com RV10 ou MT5 não mostraram variações no número de filhotes, sexo dos filhotes e ganho médio de peso semanal das fêmeas F0 e da ninhada. O peso dos filhotes foi maior ao nascimento no grupo tratado com MT5, em relação aos grupos C e tratado com RV10, mas esta diferença não se manteve nos demais momentos avaliados (ao desmame e 60 dias de idade), sugerindo que

a suplementação com MT5 pode ser importante para a formação e desenvolvimento dos fetos, garantindo-lhes um melhor desenvolvimento.

INTRODUÇÃO

No trato reprodutivo feminino, citocinas apresentam papel fundamental como moléculas imunorreguladoras determinando a natureza da resposta imune (Mahdi 2011). O sistema imune fornece proteção contra patógenos e gera barreiras imunorregulatórias que modulam o processo de reconhecimento materno da gestação (Mitchell et al. 2002; Shechter et al. 2013), prevenindo rejeição e garantindo implantação e sobrevivência embrionárias (Dekel et al. 2014; Sierra-Mondragón et al. 2015). Um processo inflamatório fisiológico é necessário para o adequado desenvolvimento das unidades feto-placentárias (Sagrillo-Fagundes et al. 2018), pois o sucesso da gestação depende de um eficiente sistema vascular útero-placenta, modulando interações no endotélio vascular materno e imunocompetência local das células e determinantes antigênicos na superfície do trofoblasto (Mitchell et al. 2002; Richter et al. 2009; Shechter et al. 2013).

As citocinas maternas são fundamentais à implantação e sobrevivência embrionárias, altamente dependente das pró-inflamatórias (Dekel et al. 2014), como interferon- γ (IFN- γ) fator de necrose tumoral- α (TNF- α), e interleucinas (IL) -1, -6, -7 e -12. No entanto, o equilíbrio entre estas citocinas pró-inflamatórias e as anti-inflamatórias, como IL-4, -8, -10, é primordial ao sucesso reprodutivo (Mahdi 2011). A IL-10 é essencial ao processo de crescimento e remodelação placentária (Roberts et al. 2003), além de apresentar efeitos protetores contra partos prematuros e abortos espontâneos

(Chatterjee et al. 2014). O aumento na taxa de citocinas pró e anti-inflamatórias pode levar a alterações circulatórias na placenta, decorrentes da vasoconstrição por ativação de macrófagos (Sagrillo-Fagundes et al. 2018).

Outros fatores, dentre eles gonadotrofinas, estrógenos, IL-1 β , e diferentes fatores de crescimento, atuam durante crescimento e desenvolvimento folicular (Vital Reyes et al. 2005; Sirotkin 2011).

A fitoalexina resveratrol (3,5,4'-trihidroxiestilbeno), pertencente à família estilbeno, composto fenólico com alta eficácia biológica (Roberts et al. 2016; De Vries et al. 2018; Rocha et al. 2018), exibe atividade antioxidante, modula a resposta inflamatória e possui efeito fitoestrogênico, agindo sobre o ovário, retardando seu envelhecimento (Mengyuan et al. 2013; Rocha et al. 2018).

A ingestão materna de resveratrol na gestação acarreta benefícios à mãe e à prole gerada (Roberts et al. 2016; Vega et al. 2016), por mecanismos ainda não totalmente esclarecidos, podendo envolver a programação do desenvolvimento fetal para elucidar a relação entre nutrição materna e saúde metabólica da prole (Costa-Silva et al. 2016; Evans et al. 2016).

A indolamina melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina), sintetizada a partir do aminoácido triptofano (Cruz et al. 2014; Majidinia et al. 2018), atua na inibição de enzimas pró-oxidantes e citocinas pró-inflamatórias (Rodriguez et al. 2007; Korkmaz et al. 2009; Chahbouni et al. 2010; Majidinia et al. 2018), além do controle neuroendócrino da função reprodutiva (Tamura et al. 2008; Reiter et al. 2014; Kumar et al. 2015), podendo contribuir significativamente na eficiência reprodutiva feminina (Liu et al. 2013; Tamura et al., 2014).

Durante a gestação, a melatonina materna atravessa livremente as barreiras fisiológicas, inclusive placenta (Reiter et al. 2009; Richter et al. 2009; Chen et

al. 2013; Sagrillo-Fagundes et al. 2018), entrando facilmente na circulação fetal, atingindo níveis máximos e, imediatamente após o parto, retorna aos níveis basais, desempenhando papel primordial nesses períodos, como antioxidante e fornecendo informações fotoperiódicas ao feto (Tamura et al. 2008; Reiter et al. 2009; Richter et al. 2009).

Objetivou-se com esse estudo avaliar se o consumo materno de resveratrol e melatonina em fêmeas de camundongos SWISS, desde o início da vida reprodutiva até o final da primeira gestação, influencia na liberação de citocinas, ganho de peso médio semanal das fêmeas F0 e na sua prolificidade, através da mensuração do número de filhotes, sexo das ninhadas e peso de seus filhotes ao nascimento, desmame e aos 60 dias de idade.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

As fêmeas de camundongos SWISS (F0) foram obtidas do Biotério Central da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), mantidos em fotoperíodo de claro e escuro (± 12 h), sob controle de temperatura ($21^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) e umidade (60%), e alojados em gaiolas individuais com acesso à água e ração comercial padrão *ad libitum*, com a seguinte composição básica: Umidade 125 g/kg; Proteína Bruta 220 g/kg; Extrato Etéreo 4 g/kg; Matéria Mineral 90 g/kg; Fibra Bruta 70 g/kg; Cálcio 10-14 g/kg; Fósforo 8.000 mg/kg, durante todo o período experimental. A proposta da utilização de animais em experimento foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (CEUA-UFMS), sob número 831/2016.

Substâncias antioxidantes

As substâncias antioxidantes resveratrol (3,4,5-trihidroxi-trans-estilbeno) e melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) foram obtidas do laboratório Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

Delineamento experimental

Utilizou-se 15 fêmeas (F0) de camundongos SWISS, com 40 dias de idade, distribuídas em três grupos, as quais receberam, respectivamente, substâncias antioxidantes - 5 mg/kg (MT5) de melatonina; 10 mg/kg (RV10) de resveratrol, dissolvidas em 0,2 mL de água, e solução salina (0,2 mL) no grupo controle (C), administradas por meio de gavagem, uma vez ao dia, às 08 h, dos 40 aos 84 dias de idade (momentos pré e pós-suplementação, respectivamente). Durante o experimento, por motivos alheios ao estudo, houve um óbito de fêmeas F0 em cada grupo; portanto, considerou-se o n=4/grupo para análise das concentrações de citocinas, e n=5/grupo para análise do número de filhotes, sexo das ninhadas e peso dos filhotes ao nascimento, aos 21 dias e aos 60 dias de idade.

Acasalamento

Aos 60 dias de idade, as fêmeas F0 foram alojadas em gaiolas com maravalha, as quais haviam sido utilizadas pelos machos anteriormente, desencadeando a indução do estro, conhecido como efeito Whitten (Whitten 1958), no qual o odor do feromônio masculino influencia e modifica o comportamento sexual das fêmeas de roedores (Braga 2017). Utilizaram-se machos hípidos, descendentes de pais com comprovada fertilidade, na proporção de duas fêmeas e um macho (2:1). As fêmeas foram observadas diariamente, para

verificação de tampão vaginal e confirmação da cópula, sendo este considerado o dia 1 da gestação. Em seguida, foram separadas de seus pares, permanecendo em gaiolas individuais, e tratadas com as substâncias antioxidantes até o parto. No dia do nascimento, contou-se o número de filhotes e sexo da prole, pesando-se os filhotes individualmente. Ao desmame (21 dias de idade) e aos 60 dias de idade, fez-se nova pesagem dos filhotes para calcular o ganho de peso da ninhada. A Figura 1 apresenta o cronograma do delineamento experimental.

Colheita e dosagem de sangue

No momento pré-suplementação (40 dias de idade), as fêmeas F0 foram submetidas à colheita de sangue, por meio de punção do plexo retro-orbital, para posterior centrifugação e obtenção de soro, congelando-o a -20°C . Imediatamente, após o desmame da ninhada (84 dias de idade), procedeu-se à eutanásia das fêmeas F0 com colheita de sangue total e obtenção de amostra de soro. O soro obtido nos dois momentos foi quantificado para as concentrações de citocinas (interleucinas - IL-6, -10, -12, interferon - IFN- γ , proteína quimioatrativa de monócitos - MCP-1 e fator de necrose tumoral – TNF- α) por citometria de fluxo com *kits* comerciais - CBA (*cytometric beads array* - BD), lidas no canal FL3 do citômetro de fluxo FACScalibur (BD), com resultados gerados em gráficos e tabelas, utilizando-se o software CellQuest (BD).

Análise Estatística

A comparação entre grupos experimentais, em relação aos níveis plasmáticos de citocinas e ganho médio semanal de peso das fêmeas F0, número de filhotes e sexo da prole, e ganho de peso dos filhotes, foi realizada com

programa estatístico SigmaPlot, versão 12.0, por meio do teste ANOVA de uma via, seguido pelo pós-teste de Tukey, quando necessário, considerando-se um nível de significância de 5%. A comparação entre os momentos pré e pós-suplementação em relação aos níveis de citocinas fez-se por meio do teste t-student pareado (Rowe 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações das citocinas IL-6, -10, -12, IFN- γ e MCP-1 nas mães não variaram entre ou dentro dos grupos nos dois momentos estudados, porém o TNF- α mostrou-se mais elevado no grupo C em relação ao grupo RV10 no momento pré-suplementação, enquanto o grupo MT5 foi similar aos outros dois grupos (Tabela 1). No entanto, comparando-se os dois momentos estudados, 40 e 84 dias de idade das fêmeas, não houve diferença entre eles em nenhum dos grupos.

O TNF- α é um importante mediador da ovulação ao agir sobre a diminuição do número de oócitos liberados e na remodelação dos tecidos ovarianos, induzindo a morte de células da granulosa de folículos não rompidos, por apoptose e autofagia (Yamamoto et al. 2015). Além disso, o TNF- α também atua no controle da lipogênese e estimula a lipólise, funcionando como um mediador do tecido adiposo (Warne 2003). Apesar da concentração de TNF- α ter sido maior no grupo C em relação ao RV10 no momento pré-suplementação, esta diferença não se manteve no período pós-suplementação. Correlacionando-se às afirmações anteriores, de Yamamoto et al. (2015), a ausência de diferença no número de filhotes das ninhadas produzidas pelo grupo C em comparação àquelas nascidas das fêmeas suplementadas, sugere

que não tenha ocorrido alteração no número de óocitos liberados pelas fêmeas dos diferentes grupos, com as concentrações de TNF- α refletindo apenas uma diferença individual nas fêmeas pré-suplementação, que não pode ser considerada um efeito mediado pelo antioxidante.

Mulheres com falhas reprodutivas no início da gestação possuem níveis séricos de IL-10 e IFN- γ aumentados (Mahdi 2011), enquanto em cultura de citotrofoblastos submetidos à isquemia/reperfusão, as concentrações de IL-10 diminuíram e as TNF- α aumentaram (Sagrillo-Fagundes et al. 2018). A associação entre IFN- γ e TNF- α pode levar à morte das células luteais devido à perda dos capilares sanguíneos do corpo lúteo (Hojo et al. 2010). No presente experimento, não houve alteração no número de filhotes nas ninhadas ao nascimento que indicasse algum fator desfavorável durante a gestação em nenhum dos três grupos estudados.

A IL-6 e o TNF- α podem remodelar o endométrio para a implantação do blastocisto (Lager e Powell 2012; Sierra-Mondragón et al. 2015). Durante a gestação, Lager e Powell (2012) relataram que as citocinas pró-inflamatórias IL-6 e TNF- α , desempenham um papel primordial na regulação do transporte de moléculas através da placenta, a partir da ativação do sistema A, o qual é responsável pelo transporte transplacentário de aminoácidos essenciais e não essenciais, além de garantir que placenta e feto recebam um fornecimento constante e orientado de ácidos graxos essenciais para o desenvolvimento placentário no início da gestação, e para o metabolismo e acúmulo de gordura no terço final. Os mesmos autores não encontraram alterações na IL-6 e no TNF- α no momento final do tratamento, porém observaram um possível efeito antioxidante positivo na prole, através da suplementação de 5 mg/kg/dia de

resveratrol nas mães, pelo aumento significativo no peso dos descendentes no início da idade adulta. No presente experimento realizado com camundongas hípidas, que levaram uma gestação a termo, os antioxidantes (5 mg/kg/dia melatonina e 10 mg/kg/dia resveratrol), não alteraram as concentrações sanguíneas de citocinas. Ainda, o momento escolhido para a mensuração das citocinas ocorreu após o período gestacional, fato que pode corroborar a ausência de significância e baixa correlação entre atuação dos antioxidantes sobre a liberação das citocinas avaliadas.

A suplementação das fêmeas com RV10 ou MT5 não resultou em modificações no ganho médio semanal de peso das mães, sendo similar ao verificado no grupo controle. Por outro lado, Sharma et al. (2017) encontraram uma redução significativa do ganho de peso corporal de ratas saudáveis ovariectomizadas que receberam suplementação de resveratrol (5 mg/kg/dia) durante um mês. Considerando-se que as camundongas utilizadas no presente experimento eram saudáveis e com sistema reprodutivo intacto, o fato de não haver variação no ganho de peso diário das fêmeas tratadas, com nenhum dos antioxidantes, pode indicar manutenção da homeostase metabólica destes animais, importante para a expressão de seu potencial reprodutivo.

O resveratrol pode atuar em diversos alvos, dentre eles, sirtuína-1 (SIRT1), AMPK e AMPc, auxiliando no aumento da fosforilação oxidativa e redução da síntese de ácidos graxos, além de estimular a lipólise (Szkudelska e Szkudelski 2010). No entanto, nas fêmeas estudadas, a dose de 10 mg/kg/dia de resveratrol não causou alterações metabólicas que se refletissem no ganho de peso. O aumento do gasto energético em fêmeas de camundongos pode ser atribuído à SIRT1, que ajuda na transformação do tecido adiposo branco em

marrom (Majumdar et al. 2014). Outros estudos também investigaram o efeito antiobesogênico do resveratrol pela inibição da lipogênese *de novo* e da absorção de ácidos graxos do tecido adiposo mediada pela lipoproteína lipase, a qual desempenha um importante papel na redução da gordura corporal (Leixuri et al. 2014; Qiao et al. 2014).

Os efeitos antiobesogênicos e de redução de peso da melatonina são conhecidos (Cipolla Neto et al. 2014), e estão associados à síntese, secreção e ação adequadas da insulina, atuando de diferentes formas, dentre elas, regulando a expressão da GLUT4, através de seus receptores de membrana (MT1,2,3) acoplados à proteína G (Dubocovich et al. 2010), ou através dos receptores de melatonina (MT1) induzindo a fosforilação da tirosina e ativação dos receptores de insulina, mobilizando transdutores intracelulares e a via de sinalização da insulina (Anhe et al. 2004; Picinato et al. 2008). Outras pesquisas afirmam que a melatonina influencia o metabolismo energético, regulando a biologia dos adipócitos, a lipidemia e o peso corporal, através da lipólise, lipogênese, diferenciação de adipócitos e absorção de ácidos graxos (Zalatan et al. 2001; Alonso-Vale et al. 2008; Alonso-Vale et al. 2009). Nas fêmeas de camundongos tratadas com RV10 e MT5, no presente experimento, as doses utilizadas permitiram a manutenção do ganho de peso médio semanal das mães, dentro de níveis normais, similares ao grupo não tratado, indicando adequado balanço energético.

Esse equilíbrio metabólico é fundamental para a prole. A deficiência de melatonina, em mulheres gestantes, segundo Ferreira et al. (2012), leva à modificação da programação metabólica intrauterina, de forma que filhos adultos destas mães apresentam intolerância à glicose, resistência à insulina e

grave desequilíbrio da secreção de insulina induzida pela glicose nas ilhotas pancreáticas.

Ao estudar-se o peso médio dos filhotes, avaliado ao nascimento, desmame e 60 dias de idade (Tabela 2), verifica-se maior peso ao nascimento no grupo tratado com MT5, em relação aos outros grupos C e RV10, que foram similares entre si, mas esta diferença não se manteve nos demais momentos avaliados (desmame e aos 60 dias de idade), com todos os animais ganhando peso de forma semelhante. É conhecido que a melatonina materna pode atravessar a placenta e entrar facilmente na circulação fetal sem biotransformação (Tamura et al. 2008; Richter et al., 2009), além de estar relacionada à função placentária e ao desenvolvimento fetal em modelos animais e humanos (Kennaway 2000; Bishnupuri e Haldar 2001; Lee et al. 2003; Iwasaki et al. 2005), indicando que uma nutrição adequada durante a gestação é essencial para o desenvolvimento fetal, pois a placenta atua como um sensor de nutrientes, modificando a disponibilidade destes e dos hormônios junto aos tecidos fetoplacentários em relação aos desafios ambientais (Korkmaz et al. 2009; Chen et al. 2013). No entanto, é importante considerar-se o fato de que, numericamente, a ninhada do grupo tratado com MT5 foi menor em relação aos demais (RV10 e C) (Tabela 3), e isto pode ter-se refletido num maior desenvolvimento destes fetos, resultando em peso mais elevado ao nascimento, mais do que a uma ação direta do antioxidante. Em conformidade, alguns pesquisadores observaram que, quanto menor o tamanho da ninhada, maior é peso ao nascer individual da prole gerada em ovelhas (Gardner et al. 2007), suínos (Quiniou et al. 2002; Varona et al. 2007; Beaulieu et al. 2010) e camundongos (Tanaka 2004).

As condições maternas, inclusive nutricionais, juntamente com a genética, têm influência na programação fetal da ninhada, que se refletirá no fenótipo e nas características produtivas dos filhotes, com maior aproveitamento dos nutrientes recebidos (Evans et al. 2016). Como as fêmeas se mantiveram em aparente homeostase metabólica em todo o período experimental, ao nascimento da prole, esse efeito foi manifestado positivamente, pelo maior peso da ninhada do grupo tratado com MT5. Em estudo conduzido com ratas desnutridas prenhes, as quais receberam 5 µg/mL de melatonina, Richter et al. (2009) verificaram melhor eficiência placentária e recuperação do peso ao nascimento da ninhada, através do aumento da capacidade antioxidante da placenta, que sugerem estar relacionada ao melhor fluxo sanguíneo para a placenta, à proporção de transportadores de superfície por grama de placenta ou à densidade dos transportadores de nutrientes nessa área de superfície, ou às modificações nos gradientes de concentração. As fêmeas do grupo MT5, no presente experimento, podem ter alcançado um melhor metabolismo de nutrientes na unidade feto-placentária por qualquer um destes motivos citados anteriormente, refletindo-se em maior peso dos filhotes ao nascimento.

Sabe-se que a placenta humana e de ratas expressa receptores de melatonina (Lee et al. 2003; Lanoix et al. 2008), porém não se sabe ao certo o efeito resultante das ações mediadas por receptores de melatonina dentro da placenta (Richter et al. 2009); acredita-se que ocorra uma cadeia de reações bioquímicas resultantes da ligação da melatonina aos seus receptores, as quais causam efeito protetor desses receptores no início do desenvolvimento embrionário, como também na unidade feto-placentária contra um possível

estresse oxidativo durante a gestação (Lanoix et al. 2008; Richter et al. 2009), além de regularem a contratilidade uterina em mulheres (Sharkey et al. 2009).

Esta ação da melatonina, refletida no peso ao nascimento dos filhotes de mães suplementadas, pode residir no seu efeito inibitório sobre o fator de transcrição nuclear Kappa-B (NK-κB), representando um importante mecanismo de proteção celular contra inflamação e produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) induzida pela inflamação, além de inibir outras vias imune-inflamatórias (Sierra-Mondragón et al. 2015; Majidinia et al. 2018).

Assim, a melatonina pode melhorar o metabolismo materno, refletindo-se no maior peso da prole ao nascimento, apontando maior assimilação e aproveitamento dos nutrientes recebidos, o que pode influenciar na programação fetal da ninhada, e melhorar os resultados produtivos e reprodutivos futuros destes filhotes.

Ao analisar-se o número de filhotes provenientes de fêmeas suplementadas com RV10 ou MT5 não se verifica diferença entre os grupos (Tabela 3), assim como no sexo dos filhotes nas ninhadas, não evidenciando dimorfismo sexual nas respostas aos antioxidantes, de forma distinta ao verificado por Vega et al. (2016), suplementando ratas com resveratrol.

Esta ausência de efeitos do RV10 e da MT5 sobre número de filhotes e sexo dos filhotes ao nascimento, no presente estudo, indica que não houve complicações durante a gestação nos grupos estudados, com ou sem suplementação de antioxidantes e, provavelmente, também reflete o equilíbrio metabólico das fêmeas. É importante ressaltar que, durante a gestação, um processo inflamatório fisiológico é necessário para o adequado desenvolvimento das unidades feto-placentárias (Sagrillo-Fagundes et al.

2018), e o sucesso da gestação depende de um eficiente sistema vascular entre útero e placenta (Mitchell et al. 2002; Shechter et al. 2013), mas isso gera um estresse oxidativo, com produção de substâncias oxidantes, necessárias em concentrações controladas (Tamura et al., 2014). Se houver uma suplementação exagerada de antioxidantes, as concentrações de oxidantes, como o óxido nítrico, podem ser reduzidas, resultando em vasoconstrição e perda funcional da unidade feto-placentária (Richter et al. 2009, Vega et al. 2016), levando a falhas no suprimento sanguíneo aos fetos.

O consumo de melatonina e resveratrol durante a gestação em camundongas tem demonstrado efetivos resultados no metabolismo da fêmea e de sua prole; porém, estudos adicionais que explorem o papel dos antioxidantes sobre o sistema imunológico e a fisiologia reprodutiva de fêmeas são necessários, visando a prevenção de doenças relacionadas à gestação, além de garantir um efeito protetor aos seus descendentes.

Em conclusão, no presente experimento, a suplementação de fêmeas de camundongos SWISS com resveratrol e melatonina, desde o início da vida reprodutiva até ao final da primeira gestação, não interferiu na liberação das citocinas IL-6, -10, -12, TNF- α , IFN- γ e MCP-1, no ganho de peso médio semanal das fêmeas F0, no número de filhotes e no sexo de suas ninhadas. Já o peso dos filhotes ao nascimento foi influenciado apenas pela suplementação com melatonina, mas esta diferença não se manteve ao desmame e aos 60 dias de idade, sugerindo que a suplementação com MT5 pode ser importante para a formação e desenvolvimento dos fetos, garantindo-lhes um melhor desenvolvimento.

REFERÊNCIAS

ALONSO-VALE MI, ANDREOTTI S, MUKAI PY, BORGES-SILVA CD, PERES SB, CIPOLLA-NETO J, LIMA FB. 2008. Melatonin and the circadian entrainment of metabolic and hormonal activities in primary isolated adipocytes. *J Pineal Res* 45:422-429.

ALONSO-VALE MI, PERES SB, VERNOCHE C, Farmer SR, Lima FB. 2009. Adipocyte differentiation is inhibited by melatonin through the regulation of C/EBPbeta transcriptional activity. *J Pineal Res* 47:221-227.

ANHE GF, CAPERUTO LC, PEREIRA-DA-SILVA M, SOUZA LC, HIRATA AE, VELLOSO LA, CIPOLLA-NETO J, CARVALHO CR. 2004. In vivo activation of insulin receptor tyrosine kinase by melatonin in the rat hypothalamus. *J Neurochem* 90:559-566.

BEAULIEU AD, AALHUS JL, WILLIAMS NH, PATIENCE JF. 2010. Impact of piglet birth weight, birth order, and litter size on subsequent growth performance, carcass quality, muscle composition, and eating quality of pork. *J Anim Sci* 88: 2767-2778.

BISHNUPURI KS E HALDAR C. 2001. Maternal transfer of melatonin alters the growth and sexual maturation of young Indian palm squirrel *Funambulus pennanti*. *Biol Signals Recept* 10: 317-325.

BRAGA LMGM. 2017. Controle reprodutivo em biotérios de criação de animais de laboratorio com ênfase em roedores. *Rev Bras Reprod Anim* 41: 105-109.

CHAHBOUNI M, ESCAMES G, VENEGAS C, SEVILLA B, GARCÍA JA, LÓPEZ LC, MUÑOZ-HOYOS A, MOLINA-CARBALLO A, ACUÑA-CASTROVIEJO D. 2010. Melatonin treatment normalizes plasma pro-inflammatory cytokines and

nitrosative/oxidative stress in patients suffering from Duchenne muscular dystrophy. *J Pineal Res* 48: 282-289.

CHATTERJEE P, CHIASSON VL, BOUNDS K.R, MITCHELL BM. 2014. Regulation of the anti-inflammatory cytokines interleukin-4 and interleukin-10 during pregnancy. *Front Immunol* 5: 1-6.

CHEN YC, SHEEN JM, TIAO MM, TAIN YL, HUANG LT. 2013. Roles of melatonin in fetal programming in compromised pregnancies. *Int J Mol Sci* 14: 5380-5401.

CIPOLLA-NETO J, AMARAL FG, AFECHE SC, TAN DX, REITER RJ. 2014. Melatonin, energy metabolism, and obesity: a review. *J Pineal Res.* 56:371-381.

COSTA-SILVA JH, SIMOES-ALVES AC AND FERNANDES MP. 2016. Developmental origins of cardiometabolic diseases: Role of the maternal diet, *Front Physiol* 7: 1-8.

CRUZ MHC, LEAL CLV, CRUZ JF, TAN DX, REITER RJ. 2014. Essential actions of melatonin in protecting the ovary from oxidative stress. *Theriogenology* 82:925-932.

DEKEL N, GNAINSKY Y, GRANOT I, RACICOT K, MOR G. 2014. The role of inflammation for a successful implantation. *Am J Reprod Immunol* 72:141-147.

DE VRIES K, TRYDOM M, STEENKAMP V. 2018. Bioavailability of resveratrol: Possibilities for enhancement. *J Herb Med* 11:71-77.

DUBOCOVICH ML, DELAGRANGE P, KRAUSE DN, SUGDEN D, CARDINALI DP, OLCESE J. 2010. International Union of Basic and Clinical Pharmacology LXXV. nomenclature, classification, and pharmacology of G protein-coupled melatonin receptors. *Pharmacol Rev* 62:343-380.

EVANS NP, BELLINGHAM M, ROBINSON JE. 2016. Prenatal programming of neuroendocrine reproductive function. *Theriogenology* 86: 340-348.

FERREIRA DS, AMARAL FG, MESQUITA CC, BARBOSA AP, LELLIS-SANTOS C, TURATI AO, SANTOS LR, SOLLON CS, GOMES PR, FARIA JA, CIPOLLA-NETO J, BORDIN S, ANHÊ GF. 2012. Maternal melatonin programs the daily pattern of energy metabolism in adult offspring. *PLoS ONE* 7:e38795.

GARDNER DS, BUTTERY PJ, DANIEL Z, SYMONDS ME. 2007. Factors affecting birth weight in sheep: maternal environment. *Reprod* 133: 297-307.

HOJO T, ODA A, LEE SH, ACOSTA TJ, OKUDA K. 2010. Effects of tumor necrosis factor α and interferon γ on the viability and mRNA expression of TNF receptor type I in endothelial cells from the bovine corpus luteum. *J Reprod Dev* 56: 515-519.

IWASAKI S, NAKAZAWA K, SAKAI J, KOMETANI K, IWASHITA M, YOSHIMURA Y, MARUYAMA T. 2005. Melatonin as a local regulator of human placental function. *J Pineal Res* 39: 261-265.

KENNAWAY DJ. 2000. Melatonin and development: physiology and pharmacology. *Semin Perinatol* 24: 258-266.

KORKMAZ A, TOPAL T, TAN DX, REITER RJ. 2009. Role of melatonin in metabolic regulation. *Rev Endocr Metab Dis* 10: 261-270.

KUMAR A, MEHROTRA S, SINGH G, NARAYANAN K, DAS GK, SONI YK, SINGH M, MAHLA AS, SRIVATAVA N, VERMA MR. 2015. Sustained delivery of exogenous melatonin influences biomarkers of oxidative stress and total antioxidant capacity in summer-stressed anestrous water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology* 83: 1402-1407.

LAGER S E POWELL TL. 2012. Regulation of nutrient transport across the placenta. *J Pregnancy* 2012: 1-14.

LANOIX D, BEGHADADI H, LAFOND J, VAILLANCOURT C. 2008. Human placental trophoblasts synthesize melatonin and express its receptors *J Pineal Res* 45: 50-60.

LEE CK, MOON DH, SHIN CS, KIM H, YOON YD, KANG HS, LEE BJ, KANG SG. 2003. Circadian expression of Mel1a and PL-II genes in placenta: effects of melatonin on the PL-II gene expression in the rat placenta. *Mol Cell Biol* 200: 57-66.

LEIXURI A, ALFREDO FQ, NOEMÍ A, MARIA P. 2014. Resveratrol: Anti-Obesity Mechanisms of Action. *Molecules* 19: 18632-18655.

LIU P, LIANG H, XIA Q, LI P, KONG H, LEI P, TU Z. 2013. Resveratrol induces apoptosis of pancreatic cancers cells by inhibiting miR-21 regulation of BCL-2 expression. *Clin Transl Oncol* 15: 741-746.

MAHDI BM. 2011. Role of some cytokines on reproduction. *Middle East Fertil Soc J* 16: 220-223.

MAJIDINIA M, REITER RJ, SHAKOURI SK, MOHEBBI I, RASTEGAR M, KAVIANI M, DARBAND SG, JAHANBAN-ESFAHLAN R, NABAVI SM, YOUSEFI B. 2018. The multiple functions of melatonin in regenerative medicine. *Ageing Res Rev* 45:33-52.

MAJUMDAR AS, GIRI PR, PAI SA. 2014. Resveratrol- and melatonin-abated ovariectomy and fructose diet-induced obesity and metabolic alterations in female rats. *Menopause* 21:876-85.

MENGYUAN L, YU Y, XIAO-YING Y, MING Z, QIANG Z, KEEFE DL, LIU L. 2013. Resveratrol protects against age-associated infertility in mice. *Hum Reprod* 28: 707-717.

MITCHELL SE, ROBINSON JJ, KING ME, MCKELVEY WAC, WILLIAMS LM. 2002. Interleukin 8 in the cervix of nonpregnant ewes. *Reprod* 124: 409-416.

PICINATO MC, HIRATA AE, CIPOLLA-NETO J, CURI R, CARVALHO CR, ANHÊ GF, CARPINELLI AR. 2008. Activation of insulin and IGF-1 signaling pathways by melatonina through MT1 receptor in isolated rat pancreatic islets. *J Pineal Res* 44:88-94.

QIAO Y, SUN J, XIA S, TANG X, SHI Y, LE G. 2014. Effects of resveratrol on gut microbiota and fat storage in a mouse model with high-fat-induced obesity. *Food Funct* 6:1241-1249.

QUINIOU N, DAGORNA J, GAUDRE D. 2002. Variation of piglets birth weight and consequences on subsequent performance. *Livest Prod Sci* 78:63-70.

REITER RJ, TAN DX, MANCHESTER LC, PAREDES SD, MAYO JC, SAINZ RM. 2009. Melatonin and reproduction revisited. *Biol Reprod* 81: 445-456.

REITER RJ, TAMURA H, TAN DX, XU X-Y. 2014. Melatonin and the circadian system: contributions to successful female reproduction. *Fertil Steril* 102, 321-328.

RICHTER HG, HANSELL JA, RAUT S, GIUSSANI DA. 2009. Melatonin improves placental efficiency and birth weight and increases the placental expression of antioxidant enzymes in undernourished pregnancy. *J Pineal Res* 46: 357-364.

ROBERTS CT, WHITE CA, WIEMER NG, RAMSAY A, ROBERTSON SA. 2003. Altered placental development in interleukin-10 null mutant mice. *Placenta* 24: 94-99.

ROBERTS VHJ, POUND LD, THORN SR, GILLINGHAM MB, THORNBURG KL, FRIEDMAN JE, FRIAS AE, GROVE KL. 2016. Beneficial and cautionary outcomes of resveratrol supplementation in pregnant nonhuman primates. *FASEB J* 28:2466-2477.

ROCHA CD, SOARES MM, ANTONINO DC, MELO JÚNIOR J, MOHALLEM RFF, RODRIGUES APR, FIGUEIREDO JR, BELETTI ME, JACOMINI JO, ALVES BG, ALVES KA. 2018. Positive effect of resveratrol against preantral follicles degeneration after ovarian tissue vitrification. *Theriogenology* 114:244-251.

RODRÍGUEZ MI, ESCAMES G, LÓPEZ LC, LÓPEZ A, GARCÍA JA, ORTIZ F, ACUÑA-CASTROVIEJO D. 2007. Chronic melatonin treatment reduces the age-dependent inflammatory process in senescence-accelerated mice. *J Pineal Res* 42: 272-279.

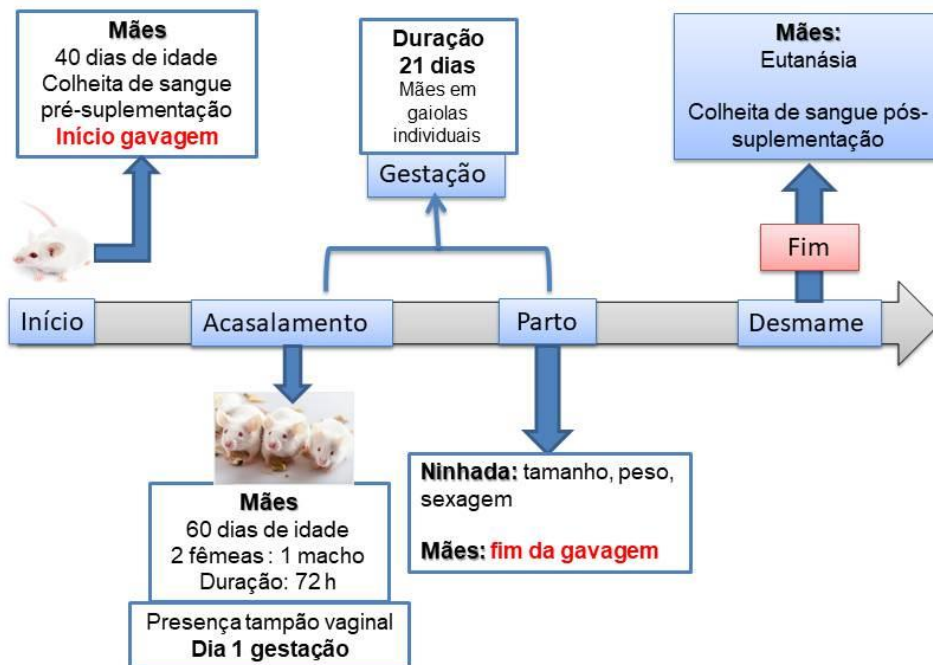
ROWE P. 2007. *Essential statistics for the pharmaceutical sciences*. Chichester, England: John Wiley & Sons Ltda, 440p.

SAGRILLO-FAGUNDES L, SALUSTIANO, EMA, RUANO R, MARKUS RP, VAILLANCOURT C. 2018. Melatonin modulates autophagy and inflammation protecting human placental trophoblast from hypoxia/reoxygenation. *J Pineal Res* 65: 1-14.

SHARKEY JT, PUTTARAM R, WORD RA, OLCESE J. 2009. Melatonin Synergizes with Oxytocin to Enhance Contractility of Human Myometrial Smooth Muscle Cells. *J Clin Endocrinol Metab* 94: 421-427.

- SHARMA R, SHARMA NK, THUNGAPATHRA M. 2017. Resveratrol regulates body weight in healthy and ovariectomized rats. *Nutr Metab* 14:1-6.
- SHECHTER R, LONDON A, SCHWARTZ M. 2013. Orchestrated leukocyte recruitment to immune-privileged sites: absolute barriers versus educational gates. *Nat Rev Immunol* 13: 206-218.
- SIERRA-MONDRAGÓN E, GÓMEZ-CHÁVES F, MURRIETA-COXCA M, VÁZQUEZ-SÁNCHEZ EA, MARTÍNEZ-TORRES I, CANCINO-DÍAZ ME, ROJAS-ESPINOSA O, CANCINO-DÍAZ JC, REYES-SÁNCHEZ JL, RODRÍGUEZ-MUÑOZ R, RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, S. 2015. Low expression of IL-6 and TNF- α correlates with the presence of the nuclear regulators of NF- κ B, I κ BNS and BCL-3, in the uterus of mice. *Mol Immunol* 68:333-340.
- SIROTKIN AV. 2011. Cytokines: Signalling molecules controlling ovarian functions. *Int J Biochem Cell Biol* 43: 857-861.
- SZKUDELSKA K, SZKUDELSKI T. 2010. Resveratrol, obesity and diabetes. *Eur J Pharmacol* 635:1-8.
- TAMURA H, NAKAMURA Y, TERRON MP, FLORES LJ, MANCHESTER LC, TAN DX, SUGINO N, REITER RJ. 2008. Melatonin and pregnancy in the human. *Reprod Toxicol* 25: 291-303.
- TAMURA H, TAKASAKI A, TAKETANI T, TANABE M, LEE L, TAMURA I, MAEKAWA R, AASADA H, YAMAGATA Y, SUGINO N. 2014. Melatonin and female reproduction. *J Obst Gynaec Res* 40: 1-11.
- TANAKA T. 2004. The relationships between litter size, offspring weight, and behavioral development in laboratory mice *Mus musculus*. *Mamm Study* 29: 147-153.

- VARONA L, SORENSEN D, THOMPSON R. 2007. Analysis of Litter Size and Average Litter Weight in Pigs Using a Recursive Model. *Genet* 177: 1791-1799.
- VEGA CC, REYES-CASTRO LA, RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ GL, BAUTISTA CJ, VÁZQUEZ-MARTÍNEZM, LARREA F, CHAMORRO-CEVALLOSGA, NATHANIELSZ PW, ZAMBRANO E. 2016. Resveratrol partially prevents oxidative stress and metabolic dysfunction in pregnant rats fed a low protein diet and their offspring. *J Physiol* 594:1483-1499.
- VITAL REYES VS, TÉLLEZ VELASCO S, HINOJOSA CRUZ JC, ORTIZ ROMERO MDE J, CHAVARRÍA OLARTE ME, REYES FUENTES A. 2005. Serum levels of IL-1beta, IL-6 and TNF-alpha in infertile patients with ovarian dysfunction. *Ginecol Obstet Mex* 73: 604-610.
- WARNE JP. 2003. Tumour necrosis factor alpha: a key regulator of adipose tissue mass. *J Endocrinol* 177: 351-355.
- WHITTEN WK. 1958. Whitten Modification of the oestrous cycle of the mouse by external stimuli associated with the male; changes in the oestrous cycle determined by vaginal smears. *J Endocrinol* 17:307-313.
- YAMAMOTO Y, KUWAHARA A, TANIGUCHI Y, YAMASAKI M, TANAKA Y, MUKAI Y, YAMASHITA M, MATSUZAKI T, YASUI T, IRAHARA M. 2015. Tumor necrosis factor alpha inhibits ovulation and induces granulosa cell death in rat ovaries. *Reprod Med Biol* 14: 107-115.
- ZALATAN F, KRAUSE JA, BLASK DE. 2001. Inhibition of isoproterenol-induced lipolysis in rat inguinal adipocytes in vitro by physiological melatonin via a receptor-mediated mechanism. *Endocrinology* 142:3783-3790.



Legenda da Figura 1:

Cronograma dos principais eventos que compuseram o delineamento experimental do presente estudo com camundongas SWISS suplementadas com resveratrol e melatonina, desde o início da vida reprodutiva até ao final da primeira gestação.

Tabela 1. Concentrações de citocinas (pg/mL) – interleucinas (IL-6, -10, -12) interferon (IFN- γ), proteína quimioatrativa de monócitos (MCP-1) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) – em fêmeas (F0) de camundongos SWISS, tratadas com resveratrol e melatonina.

Citocinas/momento	Controle ¹ (n=4)	Melatonina ² (MT5) (n=4)	Resveratrol ³ (RV10) (n=4)	Valor de p
IL-6				
Pré	0,87±0,47	0,51±0,30	0,75±0,33	0,794
Pós	1,20±0,62	0,97±0,95	3,65±2,59	0,569
Valor de p	0,184	0,616	0,287	
IL-10				
Pré	7,55±3,06	9,61±0,98	5,15±3,17	0,501
Pós	3,09±1,63	8,76±3,53	3,32±1,38	0,219
Valor de p	0,163	0,774	0,669	
IL-12				
Pré	6,83±4,52	5,47±1,83	9,22±1,73	0,544
Pós	3,49±1,96	4,47±2,39	5,16±4,14	0,947
Valor de p	0,334	0,779	0,403	
TNF-α				
Pré	16,41±1,90a	10,68±1,95ab	8,85±1,18b	0,032
Pós	13,19±1,46	9,15±1,68	9,46±3,41	0,596
Valor de p	0,431	0,448	0,868	
IFN-γ				
Pré	2,80±0,30	2,54±0,61	2,96±0,98	0,932
Pós	2,67±1,35	6,67±2,93	2,18±0,79	0,224
Valor de p	0,921	0,208	0,661	
MCP-1				
Pré	16,31±3,89	22,10±8,56	24,50±11,98	0,864
Pós	27,22±4,96	29,47±9,02	30,46±23,35	0,993
Valor de p	0,330	0,527	0,821	

1- Controle, sem suplementação

2- Suplementação de 5mg/kg de melatonina

3- Suplementação de 10 mg/kg de resveratrol

Os resultados estão apresentados em média±erro padrão da média. Valor de p no teste ANOVA de uma via (na comparação entre grupos) ou no teste t-student pareado (na comparação entre momentos). Letras diferentes na linha indicam diferença significativa entre os grupos experimentais em relação ao nível inicial plasmático de TNF (pós-teste de Tukey, p<0,05).

Tabela 2. Valores médios do peso dos filhotes (g) ao nascimento, desmame e 60 dias de idade dos grupos, nascidos de fêmeas de camundongos SWISS, tratadas com resveratrol e melatonina.

Peso dos filhotes (g)/momento	Controle¹ (C) (n=5)	Melatonina² (MT5) (n=5)	Resveratrol³ (RV10) (n=5)	Valor de p
Nascimento	1,53±0,03 ^b	1,73±0,10 ^a	1,56±0,02 ^b	0,010
Desmame	11,66±0,54	13,22±0,30	11,50±0,55	0,157
60 dias de idade	27,37±0,72	27,61±1,06	28,78±0,72	0,364

1- Controle, sem suplementação

2- Suplementação de 5mg/kg de melatonina

3- Suplementação de 10 mg/kg de resveratrol

Os resultados estão apresentados em média±erro padrão da média. Valor de p no teste ANOVA de uma via. Letras diferentes na linha indicam diferença significativa entre os grupos experimentais em relação ao peso dos animais ao nascimento (pós-teste de Tukey, p<0,05).

Tabela 3. Número de filhotes e sexo das ninhadas de fêmeas de camundongos SWISS, tratadas com resveratrol e melatonina.

Tamanho da ninhada/sexo	Controle¹ (C) (n=5)	Melatonina² (MT5) (n=5)	Resveratrol³ (RV10) (n=5)	Valor de p
Machos	23	15	26	-
média ninhada	4,60±0,25	4,20±1,07	5,20±1,16	0,747
Fêmeas	34	11	24	-
Média ninhada	6,80±0,74	2,40±1,69	4,80±1,59	0,128
Total	57	26	50	-
	11,40±0,81	6,60±2,54	10,00±1,79	0,212

1- Controle, sem suplementação

2- Suplementação de 5mg/kg de melatonina

3- Suplementação de 10 mg/kg de resveratrol

Os resultados estão apresentados em média±erro padrão da média. Valor de p no teste ANOVA de uma via.

CAPÍTULO 2 - DESEMPENHO REPRODUTIVO E PERFIL LIPÍDICO DAS FILHAS GERADAS DE FÊMEAS DE CAMUNDONGOS SWISS SUPLEMENTADAS COM RESVERATROL OU MELATONINA

O artigo a seguir está redigido de acordo com as exigências para publicação no periódico *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, excetuando-se o idioma.

Desempenho reprodutivo e perfil lipídico das filhas geradas de fêmeas de camundongos SWISS suplementadas com resveratrol ou melatonina

LORENA DA ROSA BRANDÃO¹, ADRIANA C. GUERCIO MENEZES^{1,3}
WASHINGTON TAKASHI SATO, LUCIANE CANDELORO PORTUGAL², RITA
DE CÁSSIA AVELLANEDA GUIMARÃES⁴, ALBERT SCHIAVETO DE SOUZA²,
MARIA INÊS LENZ SOUZA^{1,2}

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Federal do Mato Grosso do Sul/UFMS
Av. Senador Filinto Muller, nº 2443, Vila Ipiranga, Caixa Postal 549. CEP 79074-460. Campo Grande – MS

²Instituto de Biociências - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul/UFMS
Cidade Universitária, Caixa Postal 549. CEP 79002-970. Campo Grande – MS

³Biotério Central do Instituto de Biociências - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul/UFMS
Av. Senador Filinto Muller, 1555, Vila Ipiranga. CEP: 79070-900. Campo Grande – MS

⁴Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul/UFMS
Cidade Universitária, Caixa Postal 549. CEP 79070-900. Campo Grande - MS

Key words: melatonin, mouse, lipids, resveratrol

Academy section: Agrarian Sciences

Correspondence to: Lorena da Rosa Brandão
e-mail address: lorenarosa.vet@hotmail.com

RESUMO

Buscou-se determinar se o consumo materno de 5 ou 10 mg de resveratrol (RV5 e RV10) ou 5 ou 10 mg melatonina (MT5 e MT10) por fêmeas de camundongos SWISS, desde o início da vida reprodutiva até ao final da primeira gestação, influenciam nos níveis de colesterol total, lipoproteínas de alta densidade (HDL) e triglicérides na prole feminina (F1), na taxa de gestação e no número e taxa de implantações embrionárias dessas fêmeas. Utilizou-se fêmeas (F1) descendentes de mães suplementadas por gavagem com 5 ou 10 mg de resveratrol, 5 ou 10 mg melatonina ou solução fisiológica (C), dos 40 aos 84 dias de idade. Estas fêmeas F1 foram acasaladas aos 60 dias de idade e, oito dias após confirmação da gestação, eutanasiadas para colheita de materiais biológicos – soro para mensuração de colesterol total, triglicérides e HDL; ovários e útero para contagem do número de corpos lúteos e sítios de implantação, respectivamente, e posterior cálculo das taxas de gestação e implantação embrionária. As concentrações séricas de colesterol total foram maiores nas fêmeas F1 do grupo RV10, sem diferir do C nem do RV5. O grupo RV10 apresentou maiores níveis de triglicérides, porém sem diferir dos grupos MT5 e MT10. Já as concentrações séricas de HDL variaram entre grupos, porém sem permitir a definição exata desta diferença ao comparar-se os grupos entre si com testes de média. Na avaliação dos cortes histológicos de útero, verificou-se número de implantações embrionárias similar entre grupos. Ao calcular-se as taxas de gestação e implantação, verificou-se que as fêmeas F1, filhas de mães suplementadas com antioxidantes, alcançaram melhores resultados de taxas de gestação e de implantação, em relação ao grupo C. O consumo materno de resveratrol e melatonina por fêmeas de camundongos

SWISS, desde o início da vida reprodutiva até ao final da primeira gestação, não influenciou o perfil lipídico nem o número de implantações embrionárias de suas filhas F1; no entanto, mostrou-se importante para melhorar as taxas de gestação e de implantação destas F1, garantindo-lhes melhor eficiência reprodutiva.

INTRODUÇÃO

A fertilidade feminina é altamente dependente da adequada regulação do metabolismo energético, principalmente durante gestação e lactação, períodos caracterizados por maiores desgastes fisiológicos, com uma grande demanda de energia (Seli et al. 2014). Durante a maturação oocitária em camundongos, ocorre alto consumo de lipídeos, com geração de ATP, e o substrato energético contribui para desenvolvimento e qualidade do oócito formado (Dunning et al. 2014). Os mecanismos de armazenamento lipídico podem ser ferramentas terapêuticas essenciais contra distúrbios metabólicos relacionados à subfertilidade e infertilidade (Prates et al. 2014).

Após fertilização oocitária e pré-implantação embrionária, é necessário severo controle metabólico para impedir anomalias e morte embrionária (Seli et al. 2014). O crescimento embrionário é sensível aos efeitos diretos e indiretos do ambiente materno, particularmente nos seus estágios iniciais, época de crescimento placentário exponencial (Vonnahme 2012). A condição nutricional materna pode alterar o estado epigenético do genoma fetal e imprimir sua expressão gênica; alterações epigenéticas embrionárias precoces refletem-se nas etapas posteriores de desenvolvimento (Evans et al., 2016), acarretando programação fetal com respostas adaptativas do feto, que podem resultar em consequências anatômicas, metabólicas e fisiológicas permanentes (Barker

1998, Godfrey 2002, Davies e Norman 2002, Sugden e Holness 2002; Chang et al. 2008).

O colesterol é uma molécula lipídica precursora metabólica de ácidos biliares e hormônios esteroides, além de importante componente de membranas plasmáticas, tornando a bicamada lipídica mais rígida e com menor permeabilidade, e sua presença tem sido associada com o sucesso do desenvolvimento embrionário (Yoshida e Wada 2005). Sabe-se que a maior parte do colesterol é sintetizada, no feto, principalmente no fígado (Baardman et al. 2013), embora evidências sugiram que, durante as primeiras semanas de vida, o feto depende, em grande parte, do colesterol materno, e a placenta tem importante função no transporte desse colesterol da mãe para o feto (Woollett 2011, Van Montfoort et al. 2014).

De forma semelhante, níveis de lipoproteínas de alta densidade (HDL) estão associados a resultados reprodutivos positivos (Fujimoto et al. 2010), pois HDL (lipoproteínas de alta densidade) e LDL (lipoproteínas de baixa densidade) são os principais carreadores de colesterol para a síntese de progesterona no corpo lúteo, influenciando no estabelecimento e manutenção da gestação precoce (Baardman et al. 2013).

A síntese dos triglicérides ocorre nas células da mucosa intestinal, adipócitos, hepatócitos, células epiteliais das glândulas mamárias e rins e, uma vez dentro das células da mucosa intestinal, os ácidos graxos da dieta e os monoglicerídios são re-esterificados para formar triglicérides, sendo o controle da síntese de triglicérides pelos enterócitos amplamente dependente da disponibilidade de ácidos graxos na dieta (Thrall et al. 2015). O aumento de triglicérides no sangue materno é um achado típico durante a gestação e,

embora não atravessem diretamente a placenta, podem beneficiar o feto de várias formas, pois os triglicérides maternos representam um depósito flutuante de energia e, sob jejum, são eficientemente utilizados pelo fígado materno para sintetizar corpos cetônicos e poupar glicose para o feto (Herrera 2000). São considerados reservatórios de ácidos graxos maternos derivados da dieta, sendo sua captação dependente da concentração nos alimentos (Ghio et al. 2011).

O polifenol resveratrol (3,5,4'-trihidroxiestilbeno) encontra-se naturalmente em algumas plantas e bebidas, como uvas, vinho, amendoins e frutas (Pirola e Fräjdö 2008; De Vries et al. 2018), com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e anticancerígenas (Kulkarni e Canto 2015), além de efeito fitoestrogênico, retardando o envelhecimento do ovário (Mengyuan et al. 2013; Rocha et al. 2018).

A suplementação materna com resveratrol na gestação acarreta benefícios à saúde metabólica da mãe e da prole em mamíferos (Roberts et al. 2016; Vega et al. 2016), provavelmente pela programação do desenvolvimento fetal (Costa-Silva et al. 2016; Evans et al. 2016), pois o resveratrol pode reduzir a reação inflamatória placentária e normalizar o nível de estresse oxidativo embrionário (Roberts et al. 2014), além causar modificação epigenética da prole (Estampador e Franks 2014).

A indolamina melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina), produzida principalmente pela glândula pineal, possui muitas funções biológicas, dentre elas ações antioxidante, anti-inflamatória, oncostática e reguladora dos efeitos endócrinos e circadianos (Majidinia et al. 2018), além de atuar no controle neuroendócrino reprodutivo (Tamura et al. 2008; Reiter et al. 2014; Kumar et

al. 2015), podendo contribuir positivamente na eficiência reprodutiva feminina (Liu et al. 2013). A melatonina atua eliminando os radicais livres e participa da regulação da transcrição gênica no fluido folicular (Rodriguez et al. 2004), a qual pode proteger o oócito do estresse oxidativo (Reiter et al. 2014) e modular diretamente a qualidade oocitária (Tong et al. 2017).

Durante a gestação, a melatonina materna atravessa livremente as barreiras fisiológicas, incluindo placenta (Richter et al. 2009; Chen et al. 2013; Sagrillo-Fagundes et al. 2018), entrando facilmente na circulação fetal, desempenhando papel primordial, além de fornecer informações fotoperiódicas ao feto (Tamura et al. 2008; Reiter et al. 2009; Richter et al. 2009).

O estudo avaliou se o consumo materno de resveratrol e melatonina por fêmeas de camundongos SWISS, desde o início da vida reprodutiva até ao final da primeira gestação, influenciou nos níveis de colesterol total, lipoproteínas de alta densidade (HDL) e triglicérides da prole feminina (F1), na taxa de gestação e no número e taxa de implantações embrionárias dessas fêmeas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

As fêmeas de camundongos SWISS (F1) utilizadas nesse experimento são descendentes de mães (F0) (n=25) suplementadas com substâncias antioxidantes (resveratrol e melatonina) dos 40 aos 84 dias de idade, as quais foram obtidas do Biotério Central da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), mantidas em fotoperíodo de claro e escuro (± 12 h), sob controle de temperatura ($21^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) e umidade (60%), e alojadas em gaiolas individuais

com acesso à água e ração comercial padrão *ad libitum*, com a seguinte composição básica: Umidade 125 g/kg; Proteína Bruta 220 g/kg; Extrato Etéreo 4 g/kg; Matéria Mineral 90 g/kg; Fibra Bruta 70 g/kg; Cálcio 10-14 g/kg; Fósforo 8.000 mg/kg, durante todo o período experimental. A proposta da utilização de animais em experimento foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (CEUA-UFMS), sob número 831/2016.

Após o desmame (aos 21 dias de idade), alojaram-se as fêmeas F1 em gaiolas para 4 (quatro) indivíduos, mantendo-as sob as mesmas condições e local das fêmeas F0, até completarem 60 dias de idade.

Substâncias antioxidantes

As substâncias antioxidantes utilizadas nas fêmeas F0 foram resveratrol (3,4,5-trihidroxi-trans-estilbeno) e melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina), obtidas do laboratório Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

Delineamento experimental

Utilizaram-se 25 fêmeas (F0) de camundongos SWISS, com 40 dias de idade, distribuídas em cinco grupos, as quais receberam, respectivamente, substâncias antioxidantes - 5 mg/kg de melatonina (MT5); 10 mg/kg de melatonina (MT10); 5 mg/kg de resveratrol (RV5) e 10 mg/kg de resveratrol (RV10), dissolvidas em 0,2 mL de água, e solução salina (0,2 mL) no grupo controle (C), administradas por meio de gavagem, uma vez ao dia, às 08 h, entre 40 e 84 dias de idade (momentos pré-suplementação e pós-suplementação, respectivamente).

O grupo C gerou dezoito fêmeas F1, os grupos RV5 e RV10, quinze e dezesseis fêmeas F1, respectivamente, e os grupos MT5 e MT10, seis e nove

fêmeas F1, respectivamente, totalizando 64 fêmeas F1, utilizadas neste experimento, mantendo-se a mesma nomenclatura dos grupos maternos (fêmeas F0) para identificação dos grupos das fêmeas F1.

Acasalamento

Aos 60 dias de idade, alojaram-se as fêmeas F1 em gaiolas com maravalha utilizada anteriormente pelos machos, para indução e sincronização do estro, conhecido como efeito Whitten (Whitten 1958), em que o odor do feromônio masculino influencia e modifica o comportamento sexual das fêmeas de roedores (Braga 2017).

Para o acasalamento, utilizaram-se machos hígdios, com a mesma idade das fêmeas F1 e descendentes de pais com comprovada fertilidade, na proporção de duas fêmeas para cada macho (2:1). Essas fêmeas foram observadas diariamente, para verificação de tampão vaginal e confirmação da cópula, sendo este considerado o dia 1 de gestação. Após a confirmação, mantiveram-se as mesmas em gaiolas por oito dias, período necessário para que ocorressem as implantações embrionárias (Figura 1).

Colheita de materiais biológicos

Após oito dias da confirmação da gestação, as fêmeas F1 foram eutanasiadas por anestesia em câmara de indução, com anestésico volátil isoflurano (3-5%), seguido, após confirmação do óbito, pela colheita de sangue final por punção da veia cava posterior. O soro obtido após centrifugação foi congelado a -20°C e, utilizado para mensuração de colesterol total, triglicérides e HDL, através de *kits* comerciais (LabTest[®], Lagoa Santa 47 - GO, Brasil) quantificados em espectrofotômetro (BioTek[®] – PoweWave XS), no laboratório VetLab, Botucatu, SP. Consideraram-se os valores séricos bioquímicos obtidos de fêmeas de

camundongo SWISS, aos 60 dias de idade e provenientes do Biotério Central INBIO/UFMS (Restel, dados não publicados) como padrão referencial para este experimento.

Em seguida à colheita do sangue, procedeu-se à colheita de ovários e útero das fêmeas F1, acondicionando-os em frascos com solução de formol a 10%, para posterior análise histológica e contagem do número de corpos lúteos nos ovários e do número de sítios de implantação embrionária no útero. Após a fixação em formol, submeteram-se os tecidos à inclusão em parafina e, em seguida, fez-se cortes de 7 µm de espessura em micrótomo e montagem em lâminas de vidro. Cada lâmina teve um total de quatro cortes retirados do bloco de parafina. As lâminas foram, então, coradas com hematoxilina e eosina, e a análise realizada no Laboratório de Captura de Imagem do Instituto de Biociências – UFMS, em microscópio acoplado à câmera digital em aumento de 200x (Leica Application Suite[®] – Version 4.0.0). Selecionaram-se campos representativos no corte, nos quais se observavam alterações morfológicas nos ovários e úteros avaliados (Abbas et al. 2010).

Função reprodutiva

Contou-se o número de corpos lúteos e de sítios de implantação embrionária e, a partir destes dados, determinou-se a taxa de gestação, que é o [número de fêmeas prenhes/número de fêmeas cobertas pelos machos] x 100; e a taxa de implantação, que é o [número de sítios de implantação embrionária/número de corpos lúteos] x 100 (Spadotto et al. 2012).

Análise Estatística

A comparação entre os grupos experimentais, em relação às concentrações de colesterol total, triglicérides e da fração HDL, das fêmeas F1, foi realizada por meio do teste não paramétrico de Kruskal-Whallis, seguido pelo pós-teste de

Dunn, uma vez que as amostras não passaram no teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Utilizou-se o mesmo teste na comparação entre grupos experimentais, quanto às variáveis de avaliação histológica dos úteros e número de implantações embrionárias. A avaliação da associação entre o grupo experimental e as variáveis taxa de gestação e taxa de implantação, foi realizada por meio do teste do χ^2 , com correção de Bonferroni nas múltiplas comparações dos demais grupos com o grupo controle. Os demais resultados deste estudo foram apresentados na forma de estatística descritiva ou na forma de tabelas. Na análise estatística usou-se o programa estatístico SigmaPlot, versão 12.0, considerando-se um nível de significância de 5% (Rowe 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os resultados das concentrações séricas dos componentes do perfil lipídico (colesterol total, triglicérides e HDL). Ao avaliá-la, percebe-se que as concentrações séricas de colesterol total foram maiores nas fêmeas F1 do grupo RV10 em relação às daquelas dos grupos MT5 e MT10, porém não diferiram dos grupos C e RV5. O colesterol é um importante componente das membranas celulares, precursor da síntese dos hormônios esteroides, da vitamina D e dos ácidos biliares (Thrall et al. 2015).

As concentrações de colesterol total das fêmeas F1 dos cinco grupos avaliados neste estudo foram inferiores aos valores encontrados por Restel (dados não publicados) para fêmeas de camundongos SWISS aos 60 dias de idade ($116,33 \pm 14,09$ mg/dL), considerados como padrão para os animais do Biotério Central da UFMS, indicando que, mesmo que as fêmeas F1 do grupo RV10 tenham apresentado concentrações superiores às daquelas dos grupos tratados com melatonina, não se estabeleceu hipercolesterolemia nestas fêmeas, uma

vez que seus resultados permaneceram abaixo do padrão referencial bioquímico esperado para estes animais.

Em ratas com hipercolesterolemia, suplementadas com 20 mg/kg/dia de resveratrol, Göçmen et al. (2013) obtiveram redução do colesterol total e dos níveis de LDL, demonstrando a ação deste antioxidante em animais com metabolismo alterado. Em conformidade, Ren et al. (2011) observaram redução dos níveis de colesterol total em camundongos C57BL/6J através da suplementação com 22,5 mg/kg/dia de resveratrol. Ainda, Göçmen et al. (2011) verificaram que a administração de 20 mg/kg de resveratrol, durante 20 dias, reduziu os níveis de lipídeos séricos (colesterol total, triglicérides, LDL e VLDL) e a expressão da P-selectina e CD40-CD154 em ratos com hipercolesterolemia, porém houve aumento dos níveis de HDL. Anormalidades lipídicas podem contribuir para o desenvolvimento de graves síndromes clínicas, tais como resistência insulínica, lipidose hepática e aterosclerose (Thrall et al. 2015).

Os efeitos positivos do resveratrol em reduzir o perfil lipídico sérico nos estudos citados anteriormente, em animais hipercolesterolêmicos, pode estar relacionado à dosagem utilizada, à inibição da síntese de triacilgliceróis e/ou de ácidos graxos (Göçmen et al. 2011). Outra possível explicação é que este polifenol pode aumentar a atividade dos ácidos biliares e a excreção de esteróis neutros do fígado para as fezes (Miura et al. 2003, Zhu et al. 2008), pois a maior secreção de lipídios para fora do corpo é considerada como um possível mecanismo pelo qual o resveratrol pode ocasionar essa redução (Chekalina et al. 2016). Acredita-se, também, que o resveratrol pode facilitar a redução do acúmulo de gordura pela modulação de moléculas sinalizadoras

como Sirtuína 1 (SIRT1), Akt e proteína quinase ativada por AMP (AMPK) (Feige et al. 2008).

O composto fenólico trans-resveratrol, presente em uvas vermelhas, tem mostrado significativos resultados na prevenção de doenças cardiovasculares, obesidade, diabetes e câncer (Fan et al. 2008), além da atividade antioxidante (Park et al. 2012). Durante a gestação, o consumo materno de resveratrol pode afetar indiretamente a ninhada ao melhorar o estado metabólico da mãe (Zheng et al, 2018) ou, ainda, apresentar efeitos diretos sobre o feto devido à sua reconhecida capacidade em atravessar a placenta (Bourque et al. 2012, Ros et al. 2018). A suplementação com 5 ou 10 mg/kg de resveratrol não causou redução significativa na concentração sérica de colesterol total, sugerindo que o consumo de resveratrol pelas fêmeas F0 não foi capaz de melhorar o estado metabólico das suas filhas, ao contrário do sugerido por Bourque et al. (2012) e Ros et al. (2018). Entretanto, as F1 deste experimento foram alimentadas com dieta comercial isoenergética e não sofreram nenhum desafio metabólico, como o consumo de dietas hipo ou hiperenergéticas, indicando que os efeitos antiobesogênicos do resveratrol possam ter sido minimizados.

Por outro lado, o colesterol é essencial para o desenvolvimento de mamíferos, uma vez que sua presença determina a fluidez da membrana (Yoshida e Wada 2005, Willnow et al. 2007, Woollett 2008), além de atuar como precursor de hormônios esteroides, fundamentais para a maturação folicular ovariana; por isso, quantidades substanciais desse lipídio precisam ser transportadas para as células foliculares ou sintetizadas localmente pelas células da teca e da granulosa (Van Monfoort et al. 2014). Mesmo que o colesterol total nas fêmeas

F1 dos grupos tratados com RV5 ou RV10 não diferiram do grupo C, essas concentrações séricas permaneceram dentro dos parâmetros referenciais, não desencadeando hipercolesterolemia nessas fêmeas tratadas com o antioxidante, o que pode ter trazido benefícios reprodutivos às mesmas.

As fêmeas F1 do grupo RV10 apresentaram maiores níveis séricos de triglicérides em relação aos grupos C e RV5, mas sem diferença quando comparada aos grupos MT5 e MT10. No presente experimento, as concentrações séricas de triglicérides das fêmeas F1 de todos os grupos foram superiores aos valores encontrados por Restel (dados não publicados) para fêmeas de camundongo SWISS aos 60 dias de idade ($273,67 \pm 37,12$ mg/dL). Os triglicérides servem como fonte de energia metabólica celular, acumulando-se no tecido adiposo, de onde são recrutados em resposta às demandas do organismo (Evans 2009). O controle da síntese de triglicérides pelos enterócitos é amplamente dependente da disponibilidade de ácidos graxos na dieta, sendo estimulada pelo aumento desta disponibilidade de ácidos graxos de cadeia longa (Thrall et al. 2015).

Em mulheres, o aumento de triglicérides é comum durante a gestação e, mesmo que não atravessem a placenta, acarretam benefícios ao feto, pois são considerados reservatórios de ácidos graxos provenientes da dieta e a hidrólise pela lipoproteína lipase e outras lipases, liberam ácidos graxos livres para o feto (Ghio et al. 2011); portanto, é possível que a maior concentração de triglicérides nas fêmeas F1 do grupo RV10 seja devida ao período gestacional, uma vez que as fêmeas de camundongo SWISS avaliadas por Restel (dados não publicados) não estavam gestantes.

Já as concentrações séricas de HDL variaram entre grupos, porém sem permitir a definição exata desta diferença ao comparar-se os grupos entre si com testes de média, pois esta diferença não foi grande o suficiente para ser determinada pelos testes estatísticos. A observação numérica sugere maior concentração no grupo RV10, acompanhando os resultados dos triglicérides, mas devendo-se considerar que o HDL é o principal transportador de colesterol e de ésteres de colesterol para o fígado nesta espécie (Thrall et al. 2015), ou seja, se os lipídeos estão em maior concentração no sangue, a HDL torna-se elevada para poder transportá-los, como tentativa de compensação, na qual ele incorpora o excesso de colesterol dos tecidos extra-hepáticos por um processo denominado “transporte reverso de colesterol” (Fujimoto et al. 2010).

Ainda avaliando-se a Tabela 1, observa-se que os níveis de colesterol total, triglicérides e HDL nas fêmeas F1 dos grupos MT5 e MT10, não diferiram do grupo C. Segundo revisão sistematizada e metanálise realizada por Mohammadi-Sartang et al. (2018), a suplementação com melatonina tem efeitos significativos na redução nos níveis de triglicérides e colesterol total, sendo mais evidente em doses mais altas (>8 mg/kg/dia) e com maior tempo de duração (>8 semanas). Em outro estudo, ratos machos Zucker diabéticos, ao serem suplementados com 10 mg/kg/dia de melatonina, durante seis semanas, obtiveram redução dos níveis de triglicérides e LDL e aumento do HDL sérico (Agil et al. 2011), indicando uma ação terapêutica da melatonina.

Vários mecanismos são responsáveis pelos benefícios da suplementação com melatonina na redução do perfil lipídico sérico, como o efeito de supressão na gordura visceral (Wolden-Hanson et al. 2000), aumentando, assim, a sensibilidade à insulina e resultando em elevação da atividade da lipoproteína

lipase, diminuindo a lipólise no tecido adiposo (Rasmussen et al. 1999). Além disso, também atua na prevenção da síntese e absorção do colesterol (Hussain 2007), no incremento da conversão de colesterol em ácidos biliares, na elevação da atividade do receptor de LDL, e na inibição dos receptores metabotrópicos, os quais desempenham papel de transporte dos ácidos graxos (Dauchy et al. 2003). As diferenças entre os experimentos podem ser atribuídas às distintas metodologias, períodos de exposição e doses administradas, atuando sobre algum destes diferentes mecanismos.

Em geral, a melatonina pode evitar a oxidação das LDL (Korkmaz et al. 2009), podendo contribuir para prevenção da aterosclerose, uma vez que esta oxidação tem função crucial na ativação da patogênese dessa doença (Sahebkar 2017). O efeito significativo da melatonina na redução de triglicérides séricos é uma consequência, pois as partículas remanescentes de LDL, são lipoproteínas ricas em triglicérides (Sahebkar et al. 2014). Ainda, a melatonina é um importante antioxidante, atuando através da eliminação e desintoxicação de radicais livres, tanto em concentrações fisiológicas quanto farmacológicas (Reiter et al. 2008), e isso pode ter sido relevante na programação fetal da prole, resultando em melhor ambiente químico nas células, refletido no controle do metabolismo lipídico.

O consumo de resveratrol e melatonina pelas fêmeas F0 não influenciou significativamente o perfil lipídico (colesterol total, triglicérides e HDL) das F1, possivelmente porque essas fêmeas não foram submetidas a nenhum desafio nutricional, portanto, sua utilização para fins antiobesogênicos não deve ser desconsiderada, uma vez que os efeitos positivos desse antioxidante sobre a saúde metabólica das descendentes F1 possam ter sido minimizados.

A implantação embrionária é um processo complexo e fundamental que requer a correta comunicação entre blastocisto e útero, mediada por várias substâncias e células (Carlomagno et al. 2018). Na avaliação dos cortes histológicos de útero das fêmeas F1, verificou-se número de implantações embrionárias similares entre os grupos (Tabela 2). No entanto, ao calcular-se as taxas de gestação, as fêmeas F1, filhas de mães suplementadas com antioxidantes (RV10; MT5 e MT10), alcançaram melhores resultados em relação aos grupos C e RV5. Já para a taxa de implantação embrionária, a suplementação materna de fêmeas F0 com antioxidantes proporcionou maior percentual nas fêmeas F1 em todos os grupos em relação ao controle, ou seja, a suplementação das mães com antioxidantes foi capaz de afetar a eficiência reprodutiva das suas filhas, provavelmente como reflexo de alterações na programação fetal das mesmas.

Os efeitos benéficos do consumo materno de resveratrol na programação fetal têm sido amplamente reconhecidos nos últimos anos (Wang et al. 2018). O resveratrol pode melhorar o dano ovariano induzido por radiação, agentes quimioterápicos e desreguladores endócrinos (Ozcan et al. 2015, Said et al. 2016, Liu et al. 2017), aumentar a reserva ovariana associada ao envelhecimento, obesidade e diabetes melito (Kong et al. 2011, Liu et al. 2013, Erbas et al. 2014, Cabello et al. 2015) e melhorar a disfunção ovariana em modelo animal de síndrome do ovário policístico e hiperestimulação ovariana (Ergenoglu et al. 2015, Kasap et al. 2016). Outro possível mecanismo é a modificação epigenética (Estampador e Franks, 2014), já que pode haver uma ligação entre a nutrição nos primeiros anos de vida e a saúde cardiometabólica no indivíduo adulto (Zheng et al. 2014, Xiao e Zheng 2014). Ainda,

as propriedades antioxidantes do resveratrol são capazes de inibir a apoptose e contribuir para a proliferação celular e o desenvolvimento embrionário (Huang et al. 2007). Neste estudo, a suplementação de fêmeas F0 com 10 mg/kg de resveratrol garantiu às descendentes F1 melhores percentuais nas taxas de gestação e implantação, provavelmente devido aos efeitos positivos deste antioxidante sobre a reserva ovariana, que inicia sua formação durante o desenvolvimento intrauterino, uma vez que o resveratrol é capaz de atravessar a barreira placentária e atuar diretamente no feto (Bourque et al. 2012).

Os níveis de colesterol materno podem ser importantes para atender às demandas de colesterol fetal durante a organogênese. Em mulheres, os níveis de colesterol total materno aumentam de 30 a 50%, durante a gestação, como resultado da síntese aumentada de colesterol no fígado. Este aumento da síntese do colesterol já começa durante o primeiro trimestre, mas é mais alto no terceiro trimestre de gestação (Amundsen et al. 2006, Edison et al. 2007). Curiosamente, durante o primeiro trimestre de gestação, o HDL é significativamente aumentado, provavelmente devido a maior necessidade de colesterol para síntese de progesterona pelo corpo lúteo (Baardman et al. 2013). A partir destes dados, é possível inferir que a redução de colesterol total tenha um efeito adverso no resultado da gestação. No presente estudo, mesmo que, as fêmeas F1 dos grupos suplementados com antioxidantes obtiveram taxas de colesterol total semelhantes as fêmeas do grupo C, as mesmas apresentaram melhor desempenho reprodutivo, refletido na maior taxa de gestação e implantação embrionária.

Fêmeas de camundongos homozigotos *Knockout* para a proteína ABCA1 (Apolipoproteína 1) apresentam reduzida fecundidade, redução do número de

filhotes e diminuição do número de gestações secundárias à redução dos níveis séricos de HDL (Christiansen-Weber et al. 2000, Aiello et al. 2003), fato não encontrado no presente experimento, de forma que o perfil lipídico apresentado pelas F1, descendentes de fêmeas F0 suplementadas com antioxidantes, não diferiu do grupo controle.

Sabe-se que a melatonina materna também atravessa a placenta, e entra facilmente na circulação fetal, enviando informações fotoperiódicas ao feto (Okatani et al. 1998; Richter et al. 2009), estabelecendo o ritmo circadiano aos órgãos fetais (Reiter et al. 2008; Carlomagno et al. 2018). Este ritmo estabelecido durante o desenvolvimento fetal promove efeitos positivos nos ovários, com desenvolvimento de oócitos e embriões de boa qualidade, sendo esta ação confirmada pela presença de sítios de ligação e receptores da melatonina na membrana das células da granulosa e luteais humanas (Carlomagno et al. 2018). O papel da melatonina na programação fetal tem sido descrito, atuando para estimular o crescimento da glândula suprarrenal fetal (Torres-Farfan et al. 2006), e inibir a síntese de cortisol por esta glândula (Torres-Farfan et al. 2004), além de influenciar as gônadas fetais (Reiter et al. 2008) e o desenvolvimento reprodutivo pós-natal (Shaw e Goldman 2007). A suplementação das fêmeas F0 com melatonina, no presente experimento, foi capaz de manifestar-se em melhor potencial reprodutivo de suas filhas com maiores percentuais de gestação e de implantações. Além disso, ao se observar as taxas de gestação e de implantação, considerando-se o número de corpos lúteos produzidos, percebe-se que a suplementação das mães foi importante para os resultados reprodutivos das filhas, mostrando-se maiores que as do grupo controle.

O papel da melatonina também está relacionado às alterações epigenéticas e ao estresse oxidativo associado à programação fetal (Luo et al. 2006; Korkmaz et al. 2012). O desequilíbrio induzido pelo aumento do estresse oxidativo (Ribatti et al. 2009) pode levar à metilação incorreta, ocasionando alteração epigenética, que pode provocar modificações nos padrões da expressão gênica e fenotípica na idade adulta (Korkmaz et al. 2009). Assim, a melatonina pode regular positivamente os mecanismos epigenéticos através dos receptores nucleares, levando à dobradura do DNA no oócito (Irmak et al. 2005), sugerindo que a melatonina ative a expressão de enzimas antioxidantes, exercendo papel crucial nas modificações epigenéticas da programação fetal (Korkmaz et al. 2012). Por estas razões, os níveis corretos de melatonina durante a gestação são cruciais para prevenir erros na programação fetal, protegendo o feto do risco de desenvolver doenças metabólicas na idade adulta (Carlomagno et al. 2018).

O consumo materno de resveratrol e melatonina por fêmeas (F0) de camundongos SWISS, desde o início da vida reprodutiva até ao final da primeira gestação, não influenciou o perfil lipídico de suas filhas (F1), possivelmente porque essas fêmeas não sofreram nenhum desafio nutricional, o que pode ter atenuado seus efeitos antiobesogênicos sobre o metabolismo lipídico, nem influenciaram o número de implantações embrionárias dessas filhas. No entanto, a suplementação com antioxidantes conferiu às fêmeas F1 melhor desempenho reprodutivo, com maior percentual de taxas de gestação e de implantação embrionária, indicando possível atuação dos antioxidantes sobre a reserva ovariana dessas fêmeas durante seu desenvolvimento

intrauterino, corroborando a atuação destes antioxidantes no sucesso reprodutivo de fêmeas.

REFERÊNCIAS

ABBAS AK, FAUSTO N, KUMAR, V. 2010. Robbins e Cotran: Patologia - Bases patológicas das doenças, 8 ed., Rio de Janeiro: Elsevier, p.1026-1032

AGIL A, NAVARRO-ALARCÓN M, RUIZ R, ABUHAMADAH S, EL-MIR MY, VÁZQUEZ GF. 2011. Beneficial effects of melatonin on obesity and lipid profile in young Zucker diabetic fatty rats. *J Pineal Res* 50: 207-212.

AIELLO RJ, BREES D, FRANCONI OL. 2003. ABCA1-deficient mice: insights into the role of monocyte lipid efflux in HDL formation and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23: 972–980.

AMUNDSEN AL, KHOURY J, IVERSEN PO, BERGEI C, OSE L, TONSTAD S, RETTERSTOL K. 2006. Marked changes in plasma lipids and lipoproteins during pregnancy in women with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 189: 451–457.

BAARDMAN ME, KERSTJENS-FREDERIKSE WS, BERGER RMF, BAKKER MF, HOFSTRA RMW, PLOSCH T. 2013. The Role of Maternal-Fetal Cholesterol Transport in Early Fetal Life: Current Insight. *Biol Reprod* 88: 24, 1-9.

BARKER DJ. 1998. Mothers, babies, and health in later life. 2.ed. Edinburgh: Churchill Livingstone.

BOURQUE SL, DOLINSKY VW, DYCK JRB, DAVIDGE S.T. 2012. Maternal resveratrol treatment during pregnancy improves adverse fetal outcomes in a rat model of severe hypoxia. *Placenta* 33: 449-452.

BRAGA LMGM. 2017. Controle reprodutivo em biotérios de criação de animais de laboratório com ênfase em roedores. *Rev Bras Reprod Anim* 41: 105-109.

CABELLO E, GARRIDO P, MORAN J, GONZALEZ DEL REY C, LLANEZA P, LLANEZA-SUAREZ D, ALONSO A, GONZALEZ C. 2015. Effects of resveratrol on ovarian response to controlled ovarian hyperstimulation in ob/ob mice. *Fertil Steril* 103: 570-579.

CARLOMAGNO G, MININI M, TILOTTA M, UNFER V. 2018. From Implantation to Birth: Insight into Molecular Melatonin Functions. *Int J Mol Sci* 19: 1-16.

CHANG GO, GAYSINSKAYA V, KARATAYEV O, LEIBOWITZ SF. 2008. Maternal high-fat diet and fetal programming: increased proliferation of hypothalamic peptide-producing neurons that increase risk for overeating and obesity. *J Neurosci* 28: 107-119.

CHEKALINA NI, KAZAKOV YM, MAMONTOVA TV, VESNINA LE, KAIKIDASHEV IP. 2016. Resveratrol more effectively than quercetin reduces endothelium degeneration and level of necrosis factor α in patients with coronary artery disease. *Wiad Lek* 69: 475-479.

CHEN YC, SHEEN JM, TIAO MM, TAIN YL, HUANG LT. 2013. Roles of melatonin in fetal programming in compromised pregnancies. *Int J Mol Sci* 14: 5380-5401.

CHRISTIANSEN-WEBER TA, VOLAND JR, WU Y, NGO K, ROLAND BL, NGUYEN S, PETERSON PA, FUNG-LEUNG WP. 2000. Functional loss of ABCA1 in mice causes severe placental malformation, aberrant lipid distribution, and kidney glomerulonephritis as well as high-density lipoprotein cholesterol deficiency. *Am J Pathol* 157:1017-1029.

COSTA-SILVA JH, SIMOES-ALVES AC, FERNANDES MP. 2016. Developmental origins of cardiometabolic diseases: Role of the maternal diet, *Front Physiol* 7: 1-8.

DAVIES MJ, NORMAN RJ. 2002. Programming and reproductive functioning. *Trends Endocrinol Metabol* 13: 386-392.

DAUCHY RT, BLASK DE, SAUER LA, DAVIDSON LK, KRAUSE JA, SMITH LC, DAUCHY EM. 2003. Physiologic melatonin concentration, omega-3 fatty acids, and conjugated linoleic acid inhibit fatty acid transport in rodent hind limb skeletal muscle in vivo. *Comp Med* 53:186-190.

DE VRIES K, STRYDOM M, STEENKAMP V. 2018. Bioavailability of resveratrol: Possibilities for enhancement. *J Herb Med* 11: 71-77.

DUNNING KR, RUSSELL DL, ROBKER RL. 2014. Lipids and oocyte developmental competence: the role of fatty acids and β -oxidation. *Reprod*, 148: 15-27.

EDISON RJ, BERG K, REMALEY A, KELLEY R, ROTIMI C, STEVENSON RE, MUENKE M. 2007. Adverse birth outcome among mothers with low serum cholesterol. *Pediatrics* 120: 723–733.

ERBAS O, PALA HG, PALA EE, OLTULU F, AKTUG H, YAVASOGLU A, TASKIRAN D. 2014. Ovarian failure in diabetic rat model: nuclear factor- κ B, oxidative stress, and pentraxin-3. *Taiwan J Obstet Gynecol* 53: 498–503.

ERGENOGLU M, YILDIRIM N, YILDIRIM AG, YENIEL O, ERBAS O, YAVASOGLU A, TASKIRAN D, KARADADAS N. 2015. Effects of resveratrol on ovarian morphology, plasma anti-mullerian hormone, IGF-1 levels, and

oxidative stress parameters in a rat model of polycystic ovary syndrome. *Reprod Sci* 22: 942-947.

ESTAMPADOR AC, FRANKS PW. 2014. Genetic and epigenetic catalysts in early-life programming of adult cardiometabolic disorders. *Diabetes Metab Syndr Obes* 7: 575-586.

EVANS GO. 2009. *Animal Clinical Chemistry. A practical handbook for toxicologists and biomedical researchers.* 2nd ed. Boca Raton, Florida: CRC Press, Taylor and Francis, 368 p.

EVANS NP, BELLINGHAM M, ROBINSON JE. 2016. Prenatal programming of neuroendocrine reproductive function. *Theriogenology* 86: 340-348.

FAN E, ZHANG L, JIANG S, BAI Y. 2008. Beneficial effects of resveratrol on atherosclerosis. *J Med Food* 11:610-614.

FEIGE JN, LAGOUGE M, CANTO C, STREHLE A, HOUTEN SM, MILNE J LAMBERT PD, MATAKI C, ELLIOTT PJ, AUWERX J. 2008. Specific SIRT1 activation mimics low energy levels and protects against diet-induced metabolic disorders by enhancing fat oxidation. *Cell Metab* 8: 347-358.

FUJIMOTO VY, KANE JP, ISHIDA BY, BLOOM MS, BROWNE RW. 2010. Highdensity lipoprotein metabolism and the human embryo. *Hum Reprod Update* 16: 20-38.

GÖÇMEN AY, BURGUCU D, GÜMÜŞLÜ S. 2011. Effect of resveratrol on platelet activation in hypercholesterolemic rats: CD40-CD40L system as a potential target. *Appl Physiol Nutr Metab* 36:323-330.

GÖÇMEN AY, BURGUCU D, KARADOĞAN I, TIMURAĞAOĞLU A, GÜMÜŞLÜ S. 2013. The effect of trans-resveratrol on platelet-neutrophil complex formation and neutrophil burst in hypercholesterolemic rats. *Exp Clin Cardiol*, 18: 111-114.

GODFREY KM. 2002. The Role of the Placenta in Fetal Programming- A Review. *Placenta* 23:20-27.

GHIO A, BERTOLOTTA A, RESI V, VOLPE L, DI CIANNI G. 2011. Triglyceride metabolism in the pregnancy. In: Makowski GS (Ed), *Advances in Clinical Chemistry*, San Diego: Elsevier, San Diego, USA, p.133-153.

HERRERA E. 2000. Metabolic adaptations in pregnancy and their implications for the availability of substrates to the fetus, *Eur J Clin Nutr* 54: S47–S51.

HUANG LH, SHIAO NH, HSUUW YD, CHAN WH. 2007. Protective effects of resveratrol on ethanol-induced apoptosis in embryonic stem cells and disruption of embryonic development in mouse blastocysts. *Toxicology* 242:109-122.

HUSSAIN SAR. 2007. Effect of melatonin on cholesterol absorption in rats. *J Pineal Res* 42: 267-271.

IRMAK MK, TOPAL T, OTER S. 2005. Melatonin seems to be a mediator that transfers the environmental stimuli to oocytes for inheritance of adaptive changes through epigenetic inheritance system. *Med Hypotheses* 64: 1138-1143.

KASAP E, TURAN GA, ESKICIOGLU F, CENGIZ H, GUR EB, SIVRIKOZ ON, GENÇ M, YILMAZ O. 2016. Comparison between resveratrol and cabergoline in preventing ovarian hyperstimulation syndrome in a rat model. *Gynecol Endocrinol* 32: 634-640.

KONG XX, FU YC, XU JJ, ZHUANG XL, CHEN ZG, LUO LL. 2011. Resveratrol, an effective regulator of ovarian development and oocyte apoptosis. *J Endocrinol Investig* 34: e374-e381.

KORKMAZ A, REITER RJ, TOPAL T, MANCHESTER LC, OTER S, TAN D-X. 2009. Melatonin: na established antioxidant worthy of use in clinical trials. *Mol Med* 15: 43-50.

KORKMAZ A, ROSALES-CORRAL S, REITER RJ. 2012. Gene regulation by melatonin linked to epigenetic phenomena. *Gene* 503: 1-11.

KULKARNI S S, CANTÓ C. 2015. The molecular targets of resveratrol. *Biochim Biophys Acta* 1852:1114-1123.

KUMAR A, MEHROTRA S, SINGH G, NARAYANAN K, DAS GK, SONI YK, SINGH M, MAHLA AS, SRIVATAVA N, VERMA MR. 2015. Sustained delivery of exogenous melatonin influences biomarkers of oxidative stress and total antioxidant capacity in summer-stressed anestrous water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology* 83: 1402-1407.

LIU M, YIN Y, YE X, ZENG M, ZHAO Q, KEEFE DL, LIU L. 2013. Resveratrol protects against age-associated infertility in mice. *Hum Reprod* 28: 707-717.

LIU Y, WANG YL, HE SW, CHEN MH, ZHANG Z, FU XP, FU BB, LIAO BQ, LIN YH, QI ZQ, WANG HL. 2017. Protective effects of resveratrol against mancozeb induced apoptosis damage in mouse oocytes. *Oncotarget* 8: 6233-6245.

LUO ZC, FRASER WD, JULIEN P, DEAL CL, AUDIBERT F, SMITH GN, XIONG X, WALKER M. 2006. Tracing the origins of “fetal origins” of adult diseases: Programming by oxidative stress? *Med Hypotheses* 66: 38-44.

MAJIDINIA M, REITER RJ, SHAKOURI SK, MOHEBBI I, RASTEGAR M, KAVIANI M, DARBAND SG, JAHANBAN-ESFAHLAN R, NABAVI SM, YOUSEFI B. 2018. The multiple functions of melatonin in regenerative medicine. *Ageing Res Rev.* 45:33-52.

MENGYUAN L, YU Y, XIAO-YING Y, MING Z, QIANG Z, KEEFE DL, LIU L. 2013. Resveratrol protects against age-associated infertility in mice. *Hum Reprod* 28: 707-717.

MIURA D, MIURA Y, YAGASAKI K. 2003. Hypolipidemic action of dietary resveratrol, a phytoalexin in grapes and red wine, in hepatoma-bearing rats. *Life Sci* 73: 1393-1400.

MOHAMMADI-SARTANG M, GHORBANI M, MAZLOOM Z. 2018. Effects of melatonin supplementation on blood lipid concentrations: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Nutr.*37:1943-1954.

OKATANI Y, OKAMOTO K, HAYASHI K, WAKATSUKI A, TAMURA S, SAGARA Y. 1998. Maternal-fetal transfer of melatonin in pregnant women near term. *J Pineal Res* 25: 129-345.

OZCAN P, FICICIOGLU C, YILDIRIM OK, OZKAN F, AKKAYA H, ASLAN I. 2015. Protective effect of resveratrol against oxidative damage to ovarian reserve in female Sprague-Dawley rats. *Reprod BioMed Online* 31: 404-410.

PARK SJ et al. 2012. Resveratrol ameliorates aging-related metabolic phenotypes by inhibiting Camp phosphodiesterases, *Cell* 148: 421–433.

PIROLA L, FRÄJDÖ S. 2008. Resveratrol: one molecule, many targets. *Life* 60: 323-332.

PRATES EG, NUNES JT, PEREIRA RM. 2014. A role of lipid metabolism during cumulus-oocyte complex maturation: impact of lipid modulators to improve embryo production. *Mediators of Inflamm* 14: 1-11.

RASMUSSEN DD, BOLDT BM, WILKINSON C, YELLON SM, MATSUMOTO AM. 1999. Daily melatonin administration at middle age suppresses male rate

visceral fat, plasma leptin, and plasma insulin to youthful levels. *Endocrinology* 140: 1009-1012.

REITER RJ, TAN D-X, JOU M-J, KORKMAZ A, MANCHESTER LC, PAREDES SD. 2008. Biogenic amines in the reduction of oxidative stress: melatonin and its metabolites. *Neuroendocrinol Lett* 29: 391-398.

REITER RJ, TAN DX, MANCHESTER LC, PAREDES SD, MAYO JC, SAINZ RM. 2009. Melatonin and reproduction revisited. *Biol Reprod* 81: 445-456.

REITER RJ, TAMURA H, TAN DX, XU X-Y. 2014. Melatonin and the circadian system: contributions to successful female reproduction. *Fertil Steril* 102, 321-328.

REN Y, LI Y, ZHAO Y, YU F, ZHAN Z, YUAN Y, YANG J. 2011. Effects of resveratrol on lipid metabolism in C57BL/6J mice. *Wei Sheng Yan Jiu* 40:495-497.

RIBATTI D, NICO B, CRIVELLATO E. 2009. Morphological and molecular aspects of physiological vascular morphogenesis. *Angiogenesis* 12: 101-111.

RICHTER HG, HANSELL JA, RAUT S, GIUSSANI DA. 2009. Melatonin improves placental efficiency and birth weight and increases the placental expression of antioxidant enzymes in undernourished pregnancy. *J Pineal Res* 46: 357-364.

ROBERTS VH, POUND LD, THORN SR, GILLINGHAM MB, THORNBURG KL, FRIEDMAN JE, FRIAS AE, GROVE KL. 2014. Beneficial and cautionary outcomes of resveratrol supplementation in pregnant nonhuman primates. *FASEB J* 28: 2466-2477.

ROBERTS VHJ, POUND LD, THORN SR, GILLINGHAM MB, THORNBURG KL, FRIEDMAN JE, FRIAS AE, GROVE KL. 2016. Beneficial and cautionary

outcomes of resveratrol supplementation in pregnant nonhuman primates. *FASEB J* 28:2466-2477.

ROCHA CD, SOARES MM, ANTONINO DC, MELO JÚNIOR J, MOHALLEM RFF, RODRIGUES APR, FIGUEIREDO JR, BELETTI ME, JACOMINI JO, ALVES BG, ALVES KA. 2018. Positive effect of resveratrol against preantral follicles degeneration after ovarian tissue vitrification. *Theriogenology* 114:244-251.

RODRIGUEZ C, MAYO JC, SAINZ RM, ANTOLIN I, HERRERA F, MARTIN V, REITER RJ. 2004 Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J Pineal Res* 36: 1-9.

ROS P, DIAZ F, FREIRE-REGATILLO A, ARGENTE-ARIZON P, BARRIOS V, ARGENTE J, BARRIOS V, ARGENTE J, CHOWEN JA. 2018. Resveratrol intake during pregnancy and lactation modulates the early metabolic effects of maternal nutrition differently in male and female offspring. *Endocrinology* 59: 810-825.

ROWE P 2007. *Essential statistics for the pharmaceutical sciences*. Chichester, England: John Wiley & Sons Ltda, 440p.

SAGRILLO-FAGUNDES L, SALUSTIANO, EMA, RUANO R, MARKUS RP, VAILLANCOURT C. 2018. Melatonin modulates autophagy and inflammation protecting human placental trophoblast from hypoxia/reoxygenation. *J Pineal Res* 65: 1-14.

SAHEBKAR A, CHEW GT, WATTS GF. 2014. Recent advances in pharmacotherapy for hypertriglyceridemia. *Prog Lipid Res* 56: 47-66.

SAHEBKAR A. 2017. Effects of quercetin supplementation on lipid profile: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Crit Rev Food Sci Nutr* 57: 666-676.

SAID RS, EL-DEMERDASH E, NADA AS, KAMAL MM. 2016. Resveratrol inhibits inflammatory signaling implicated in ionizing radiation-induced premature ovarian failure through antagonistic crosstalk between silencing information regulator 1 (SIRT1) and poly (ADPribose) polymerase 1 (PARP-1). *Biochem Pharmacol* 103: 140–150.

SELI E, BABAYEV E, COLLINS SC, NEMETH G, HORVATH TLC. 2014. Minireview: Metabolism of female reproduction: regulatory mechanisms and clinical implications. *Mol Endocrinol* 8: 790-804.

SHAW, D.; GOLDMAN, B.D. 2007. Developmental changes in male siberian hamsters (*phodopus sungorus*) exposed to different gestational and postnatal photoperiods. *J. Pineal Res* 43: 25-34.

SPADOTTO R, DAMASCENO DC, GODINHO AF, AMORIM EMP, PEROBELLI JE, KEMPINAS WDG. 2012. Reproductive physiology, and physical and sexual development of female offspring born to diabetic dams. *Arq Bras Endocrinol Metab* 56: 96-103.

SUGDEN MC, HOLNESS MJ. 2002. Gender-specific programming of insulin secretion and action. *J Endocrinol* 175: 757-767.

TAMURA H, NAKAMURA Y, TERRON MP, FLORES LJ, MANCHESTER LC, TAN DX, SUGINO N, REITER RJ. 2008. Melatonin and pregnancy in the human. *Reprod Toxicol* 25: 291-303.

THRALL MA, WEISER G, ALLISON RW, CAMPBELL TW. 2015. *Hematologia e bioquímica clínica veterinária*. 2.ed. São Paulo: Roca, 1590p.

TONG J, SHENG S, SUN Y, LI H, LI WP, ZHANG C, CHEN ZJ. 2017. Melatonin levels in follicular fluid as markers for IVF outcomes and predicting ovarian reserve. *Reprod* 153:443-451.

TORRES-FARFAN C, RICHTER HG, GERMAIN AM, VALENZUELA GJ, CAMPINO C, ROJAS-GARCIA P, FORCELEDO ML, TORREALBA F, SERON-FERRE M. 2004. Maternal melatonin selectively inhibits cortisol production in the primate fetal adrenal gland. *J. Physiol* 554: 841-856.

TORRES-FARFAN C, ROCCO V, MONSO C, VALENZUELA FJ, CAMPINO C, GERMAIN A, TORREALBA F, VALENZUELA GJ, SERON-FERRE M. 2006. Maternal melatonin effects on clock gene expression in a nonhuman primate fetus. *Endocrinology* 147: 4618-4626.

VAN MONTFOORT APA, PLÖSCHA T, HOEKA A, TIETGE UJF. 2014. Impact of maternal cholesterol metabolism on ovarian follicle development and fertility. *J Reprod Immunol* 104-105: 32-36.

VEGA CC, REYES-CASTRO LA, RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ GL, BAUTISTA CJ, VÁZQUEZ-MARTÍNEZM, LARREA F, CHAMORRO-CEVALLOS GA, NATHANIELSZ PW, ZAMBRANO E. 2016. Resveratrol partially prevents oxidative stress and metabolic dysfunction in pregnant rats fed a low protein diet and their offspring. *J Physiol* 594:1483-1499.

VONNAHME KA. 2012. Maternal Nutrition and Fetal Programming, In: 61st Annual Florida Beef Cattle Short Course, 2012, Gainesville, Florida. **Anais...** Gainesville: University of Florida, 73-80.

WANG Y, ZHANG M, CHEN ZJ, DU Y. 2018. Resveratrol promotes the embryonic development of vitrified mouse oocytes after in vitro fertilization. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 54: 430-458.

WOLDEN-HANSON T, MITTON D, MCCANTS R, YELLON S, WILKINSON CW, MATSUMOTO A, RASMUSSEN DD. 2000. Daily melatonin administration to middle-aged male rats suppresses body weight, intraabdominal adiposity, and plasma leptin and insulin independent of food intake and total body fat. *Endocrinology* 141: 487-497.

WHITTEN W K. 1958. Whitten Modification of the oestrous cycle of the mouse by external stimuli associated with the male; changes in the oestrous cycle determined by vaginal smears. *J Endocrinol* 17:307-313.

WILLNOW TE, HAMMES A, EATON S. 2007. Lipoproteins and their receptors in embryonic development: more than cholesterol clearance. *Development* 134: 3239-3249.

WOOLLETT LA. 2008. Where does fetal and embryonic cholesterol originate and what does it do? *Annu Rev Nutr* 28: 97-114.

WOOLLETT LA. 2011. Review: transport of maternal cholesterol to the fetal circulation. *Placenta* 32: S218–S221.

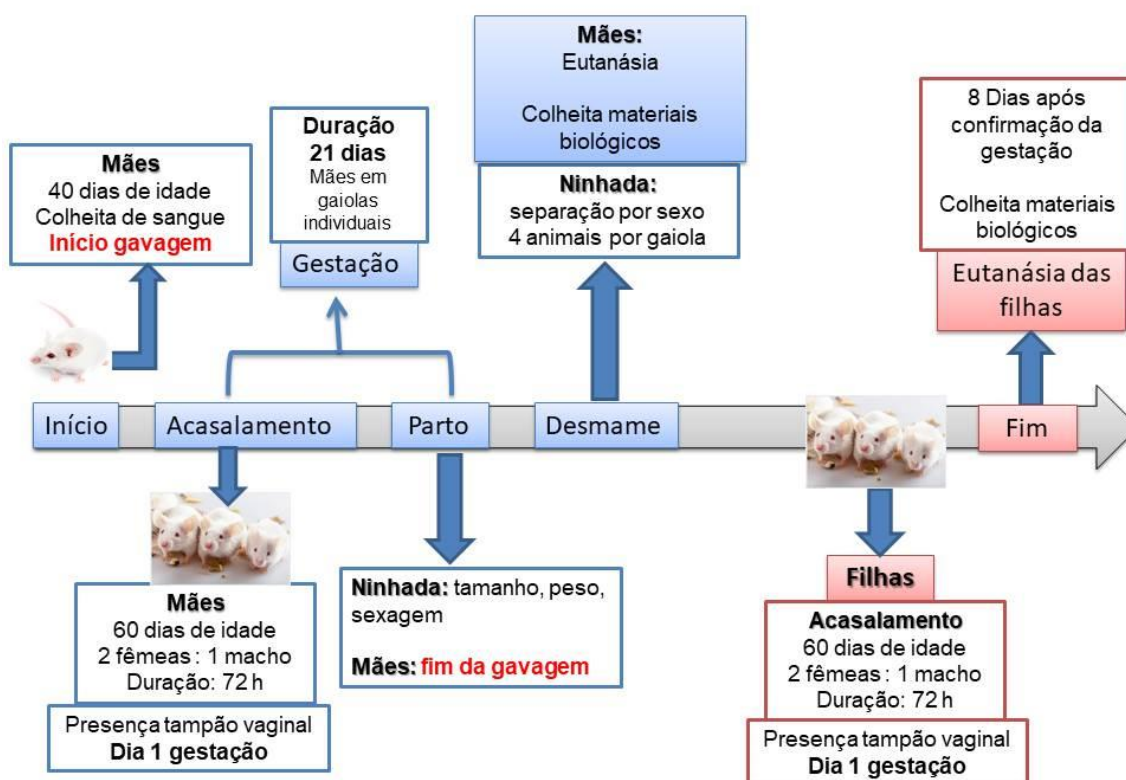
XIAO X, ZHENG J. 2014. MicroRNAs: Crucial modulators of fetal epigenetic programming in nutrition and glucose metabolism. *Chin Med J* 127:3521-3523.

YOSHIDA S, WADA Y. 2005. Transfer of maternal cholesterol to embryo and fetus in pregnant mice. *J Lipid Res* 46: 2168-2174.

ZHENG, J.; XIAO, X.; ZHANG, Q.; YU, M. 2014. DNA methylation: the pivotal interaction between early-life nutrition and glucose metabolism in later life. *Br J Nutr* 112: 1850-1857.

ZHENG S, FENG Q, CHENG J, ZHENG J. 2018. Maternal resveratrol consumption and its programming effects on metabolic health in offspring mechanisms and potential implications. *Biosci Rep* 38:1-9.

ZHU L, LUO X, JIN Z. 2008. Effect of resveratrol on serum and liver lipid profile and antioxidant activity in hyperlipidemia rats. Asian Austral J Anim 21: 890-895.



Legenda da Figura 1:

Cronograma dos principais eventos que compuseram o delineamento experimental do presente estudo, com fêmeas de camundongos SWISS (F0) suplementadas com resveratrol e melatonina, desde o início da vida reprodutiva até o final da primeira gestação e avaliação das fêmeas (F1) delas geradas.

Tabela 1. Níveis de colesterol total (mg/dL), triglicérides (mg/dL) e lipoproteínas de alta densidade (HDL; mg/dL) nas fêmeas de camundongos SWISS F1 descendentes de fêmeas (F0) suplementadas com resveratrol ou melatonina.

Grupo	Colesterol total	Triglicérides	HDL
Controle	96,79±3,32 ^{ab}	302,42±14,97 ^b	86,74±2,91 ^a
Resveratrol 5 mg	102,33±3,55 ^{ab}	280,06±15,40 ^b	83,17±2,52 ^a
Resveratrol 10 mg	113,00±4,24 ^a	367,10±15,18 ^a	94,24±3,84 ^a
Melatonina 5 mg	89,64±3,24 ^b	350,09±18,20 ^{ab}	82,91±7,29 ^a
Melatonina 10 mg	89,50±9,79 ^b	340,60±27,34 ^{ab}	76,40±8,60 ^a
Valor de p	<0,001	0,001	0,026

Os resultados estão apresentados em média±erro padrão da média. Valor de p no teste de Kruskal-Whallis de uma via. Letras diferentes na coluna indicam diferença significativa entre os grupos experimentais (pós-teste de Dunn, p<0,05).

Tabela 2. Número de implantações embrionárias (n°), taxas de gestação (%) e de implantação embrionária (%) nas fêmeas de camundongos SWISS F1 descendentes de fêmeas (F0) suplementadas com resveratrol ou melatonina.

Grupo	n° implantações embrionárias	Taxa de gestação	Taxa de implantação
Controle	0,89±0,50	16,66 ^b	16,49 ^b
Resveratrol 5 mg	2,00±0,56	53,33 ^{ab}	40,00 ^a
Resveratrol 10 mg	2,56±0,42	75,00 ^a	55,42 ^a
Melatonina 5 mg	2,67±0,67	83,33 ^a	57,14 ^a
Melatonina 10 mg	0,67±0,53	77,77 ^a	55,81 ^a
Valor de p	0,052	0,02	0,001

Os resultados estão apresentados em média±erro padrão da média. Valor de p no teste de Kruskal-Whallis de uma via e teste do χ^2 . Letras diferentes na coluna indicam diferença significativa entre os grupos experimentais (pós-teste de Dunn e Bonferroni, p<0,05).