

**Efeito da melatonina exógena frente ao trato digestório da prole de camundongos
submetidos ao desmame precoce: uma revisão sistemática**

**Effect of exogenous melatonin on the digestive tract of offspring of mice submitted to
early weaning: a systematic review**

**Efecto de la melatonina exógena en el tracto digestivo de la descendencia de ratones
sometidos a destete temprano: una revisión sistemática**

Recebido: 28/09/2020 | Revisado: 30/09/2020 | Aceito: 03/10/2020 | Publicado: 08/10/2020

Marcos Aurélio Santos da Costa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9836-9444>

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

E-mail: marcosxp17@gmail.com

Rodrigo Reges dos Santos Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0141-5649>

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

E-mail: rodrigoregesufpe@gmail.com

Maria Eduarda da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5369-6051>

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

E-mail: mariaeduardaufpe@gmail.com

Luiz Henrique da Silva Linhares

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0768-9184>

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

E-mail: lnhares.lui8@gmail.com

Thiago Oliveira Nascimento

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6288-8557>

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

E-mail: thiago.13oliveira@hotmail.com

Maria Luísa Figueira de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9006-8794>

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

E-mail: malufigueira_2@outlook.com

José Anderson da Silva Gomes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0348-2282>

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

E-mail: andy_silvacarte@outlook.com

Tainá Maria Santos da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8142-1995>

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

E-mail: taina_mariaa@hotmail.com

Renatha Claudia Barros Sobreira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7931-674X>

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

E-mail: renathasobreira@gmail.com

Juliana Pinto de Medeiros

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9400-8067>

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

E-mail: jupinto2@gmail.com

Fernanda Chagas Angelo Mendes Tenorio

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8255-356X>

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

E-mail: fcas14@hotmail.com

Sônia Pereira Leite

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0634-9735>

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

E-mail: spleite6@hotmail.com

Resumo

O presente estudo é uma revisão sistemática com o objetivo de caracterizar os principais achados na literatura, que relatam a ação da melatonina exógena frente ao sistema digestório de camundongos que sofreram desmame precoce. A pesquisa bibliográfica foi realizada no PubMed, BVS e SCIELO utilizando as seguintes palavras chaves: melatonin, stress e digestive tract. Foram encontrados no total 118 artigos nas 3 bases de dados analisadas. No entanto, após aplicar os critérios de inclusão / exclusão, restou apenas 1 artigo. O artigo encontrado aborda a ação da melatonina frente ao intestino delgado de camundongos que foram desmamados precocemente. Coletivamente, a suplementação de melatonina melhora o

ganho de peso corporal e a morfologia intestinal, enquanto exerce pouco efeito frente a proliferação celular e apoptose, assim como nas células caliciformes e células Paneth no íleo de camundongos em desmame.

Palavras-chave: Melatonina; Stress; Desmame precoce; Trato digestório.

Abstract

The present study is a systematic review with the objective of characterizing the main findings in the literature, which report the action of exogenous melatonin in the digestive system of mice that suffered early weaning. The bibliographic research was carried out in PubMed, VHL and SCIELO using the following key words: melatonin, stress and digestive tract. A total of 118 articles were found in the 3 databases analyzed. However, after applying the inclusion/exclusion criteria, only 1 article left. The paper found addresses the action of melatonin in the small intestine of mice that were weaned early. Collectively, melatonin supplementation improves body weight gain and intestinal morphology, while exerting little effect on cell proliferation and apoptosis, as well as on goblet cells and Paneth cells in the ileum of weaning mice.

Keywords: Melatonin; Stress; Early weaning; Digestive system.

Resumen

El presente estudio es una revisión sistemática con el objetivo de caracterizar los principales hallazgos en la literatura, que informan de la acción de la melatonina exógena en el sistema digestivo de ratones que sufrieron destete temprano. La investigación bibliográfica se llevó a cabo en PubMed, VHL y SCIELO utilizando las siguientes palabras clave: melatonina, estrés y tracto digestivo. Se encontraron un total de 118 artículos en las 3 bases de datos analizadas. Sin embargo, después de aplicar los criterios de inclusión/exclusión, sólo queda 1 artículo. El documento encontrado aborda la acción de la melatonina en el intestino delgado de los ratones que fueron destetados temprano. Colectivamente, la suplementación con melatonina mejora el aumento de peso corporal y la morfología intestinal, mientras que ejerce poco efecto sobre la proliferación celular y la apoptosis, así como en las células de la copa y las células de Paneth en el íleon de los ratones destete.

Palabras clave: Melatonina; Estrés; Destete temprano; Sistema digestivo.

1. Introdução

No início do período neonatal o leite materno fornece ao neonato uma solução rica em proteínas, imunoglobulinas e fatores tróficos importantes para o desenvolvimento do corpo e evolui gradativamente para um padrão alimentar adulto (Weaver, 1986). Entretanto, quando o desmame ocorre de forma abrupta pode acarretar danos morfológicos, fisiológicos e comportamentais no organismo (Kikusui et al., 2007; Oliveira et al., 2011 “A”).

Agressões no período perinatal, gestação e lactação, são responsáveis por promover diferentes respostas adaptativas que por consequência causam alterações comportamentais, morfológicas e fisiológicas (Bivolarski et al., 2014; Oliveira et al., 2011 “A”). Além disso, vários estudos demonstraram que o desmame precoce promove modificações morfofisiológicas e neurocomportamentais na vida adulta (Kikusui et al., 2007; Oliveira et al., 2011 “B”).

A melatonina foi identificada no leite humano das mães 3 a 4 dias após o parto. Embora nenhuma concentração de melatonina detectável tenha sido encontrada durante o dia, a melatonina possuía concentrações mensuráveis à noite, com os valores sendo três vezes menores do que no soro (Illnerova H, Buresova M, Presl J, 1993). A melatonina no leite pode ter outras consequências importantes para a saúde do recém-nascido. Bebês alimentados exclusivamente com leite materno, possuíam a incidência significativamente menor de ataque de cólica, menor gravidade de ataques irritáveis e uma tendência para um sono noturno mais longo do que lactentes alimentados com leite artificial (Cohen EA, Hadash A, Shehadeh N, Pillar G, 2012). Valendo ressaltar as atividades protetoras da melatonina frente distúrbios gastrointestinais, como esofagite, úlcera péptica, colite ulcerativa, isquemia/reperfusão intestinal e cirrose hepática (De Talamoni, Nori Tolosa et al., 2017). Os recém-nascidos têm a capacidade de produzir melatonina (Jaldo-Alba, F. et al., 1993), mas não ritmicamente até 4 meses após o parto (Jan Je, Wasdell MB, Freeman RD, Bax M, 2007).

Consequentemente, os recém-nascidos não possuem um sinal endógeno para sincronizar suas funções ritmicamente. Claramente, a melatonina no leite humano funciona como um potencial cronobiótico (Arslanoglu S, Bertino E, Nicocia M, Moro Ge, 2012) e, portanto, aleitamento materno fornece aos recém-nascidos um sincronizador externo que eles mesmos não podem gerar. Como a pineal recém-nascida não produz melatonina ritmicamente (Jaldo-Alba, F. et al., 1993), o ritmo circadiano da melatonina no leite pode servir ao recém-nascido para a regulação cronobiótica (Cubero, J. et al., 2005).

A síntese endógena de melatonina é a partir do triptofano via 5-hidroxitriptamina. A

produção circadiana de melatonina (MEL) pela glândula pineal explica sua influência cronobiótica na atividade do organismo, incluindo os ritmos endócrino e não endócrino. Sabe-se que a alta produção desse hormônio na pineal é mantida durante a fase escura do ciclo claro/escuro, desde que não haja luz no ambiente, já que a luz durante a noite bloqueia a produção de melatonina (Brainard et al., 1983; Sahin, Levent, and Mariana G. Figueiro, 2013).

Sendo assim, o objetivo deste estudo é caracterizar os principais achados na literatura, que relatam a ação da melatonina frente ao sistema digestório de ratos/ camundongos que sofreram desmame precoce.

2. Metodologia

O presente estudo é uma revisão sistemática de literatura (qualitativa) (Pereira A.S. et al. 2018) realizada entre 14 a 16 de janeiro de 2020, individualmente por dois pesquisadores em um estudo duplo-cego em que não houve limites temporais na seleção dos artigos. A pesquisa bibliográfica foi realizada no PubMed, BVS e SCIELO utilizando as seguintes palavras chaves: melatonin, stress e digestive tract, todas presentes na lista de Descritores em Ciências da Saúde (DeCS).

Posteriormente, foram analisados os títulos e resumos de cada artigo. Nesta revisão, foram incluídos artigos originais envolvendo todas as linhagens de ratos/ camundongos submetidos ao desmame precoce. Foram excluídos os artigos em que os animais foram submetidos a intervenções farmacológicas ou cirúrgicas e aqueles em que os ratos/ camundongos apresentavam alguma doença ou alteração hormonal.

3. Resultados e Discussão

No total foram encontrados, 118 artigos nas 3 bases de dados analisadas. O número de artigos encontrados em cada base de dados, de acordo com a respectiva combinação dos descritores, é mostrado na Tabela 1. No entanto, após aplicar os critérios de inclusão/exclusão, restou apenas 1 artigo.

Tabela 1. Número de artigos encontrados em cada base de dados com a combinação dos descritores.

Combinação dos Descritores			PUBMED	BVS	Scielo
Melatonin	Stress	Digestive tract	108	10	0

Fonte: Autores.

A partir da Tabela 1, podemos ver que a maior parte dos artigos, dentre a combinação de descritores: melatonin, stress e digestive tract, ficou concentrada no pubmed seguida da BVS, visto que o Scielo não foi encontrado nenhum artigo.

De acordo com Ren, Wenkai et al., (2018) (tabela 2) a suplementação de melatonina promoveu ganho de peso e melhorou a morfologia intestinal em ratos desmamados. Observou-se o efeito da suplementação de melatonina no estresse de desmame, ganho de peso, ingestão de alimentos e a ingestão de água durante o experimento. A melatonina promoveu significativamente ($p = 0,02$) ganho de peso de camundongos desmamados. É sabido que o estresse de desmame induz alterações no intestino delgado, como atrofia das vilosidades e hiperplasia da cripta (Wang J, Zeng L, Tan B, et al., 2016; Montagne L, Boudry G, Favier C, et al, 2007, Ren, Wenkai et al, 2018).

Tabela 2. Dados do artigo encontrado.

Autores	Dosagem de melatonina	Sexo	Órgãos
Ren, Wenkai et al. 2018	0.2 mg/mL	macho	Duodeno, jejuno e íleo

Fonte: Autores.

A partir dos dados encontrados na (Tabela 2), podemos ver que o foco do autor foi frente ao intestino delgado e com ratos machos numa dosagem de 0,2 mg/ml de melatonina.

O desmame precoce resultou em criptas mais profundas, menor taxa de vilosidades / cripta e uma área menor de vilosidades no dia 21. Já no 90° dia, os animais desmamados precocemente tinham criptas mais rasas, uma maior relação vilosidade / cripta e uma área vilosa menor em comparação com os animais normalmente desmamados. O desmame precoce afeta significativamente a mucosa intestinal, o que pode afetar a absorção de alimentos e levar

a diferenças no crescimento somático em comparação com o desmame tardio (Crispel, Yonatan, et al, 2019).

Melatonina aumentou significativamente o comprimento das vilosidades ($p = 0,01$), mas diminuiu a profundidade da cripta ($p = 0,05$), resultando em uma maior proporção de vilosidades / cripta no íleo ($p = 0,003$), em comparação aos ratos controle. A suplementação de melatonina teve pouco efeito sobre a proporção de vilosidades e criptas no duodeno e no jejuno, embora a melatonina diminuiu o comprimento das vilosidades e a profundidade da cripta no duodeno (Ren, Wenkai et al, 2018).

Posteriormente, exploraram a proliferação e apoptose celular no íleo entre o tratamento com melatonina e ratos de controle. Houve pouca diferença no número de células positivas para Ki67 em cada cripta entre os dois grupos, sugerindo que a suplementação de melatonina teve pouco efeito sobre proliferação celular no íleo de camundongos desmamados. Da mesma forma, a suplementação de melatonina teve pouco efeito na abundância de proteínas do PCNA, um fabricante de proliferação celular. Explorou-se a apoptose celular no íleo após a suplementação de melatonina. Não houve significativa alteração na abundância de proteínas da caspase-9, caspase-8 clivada ou caspase-3 clivada entre camundongos suplementados com melatonina e camundongos sem suplementação de melatonina, sugerindo que a suplementação de melatonina também teve pouco efeito na apoptose celular no íleo de ratos desmamados (Ren, Wenkai et al, 2018).

Além disso, Ren, Wenkai et al (2018) investigaram a influência da melatonina nas células intestinais de Paneth e células caliciformes. Não houve alterações na expressão do mRNA da lisozima (Lyz) e angiogenina 4 (Ang4), fabricantes de células de Paneth, no íleo de camundongos desmamados após a suplementação de melatonina. Da mesma forma, não houve influência no número de células de Paneth na cripta do íleo. A coloração de lisozima também sugeriu que a melatonina teve pouco efeito nas células positivas para lisozima na cripta do íleo. Em relação às células caliciformes, teve pouco efeito sobre a expressão do mRNA da mucina2 derivada de células caliciformes (Muc2) e do fator 3 de trevo (Tff3) no íleo, bem como o número de células caliciformes nas vilosidades do íleo.

A coloração com azul alciano também demonstrou que a melatonina não alterou a número de células caliciformes nas vilosidades do íleo em camundongos desmamados. A melatonina também teve pouca influência na expressão do mRNA de células enteroendócrinas, cromogranina A (Chga) e peptídeo YY (Pyy), sacarase (um marcador para enterócitos absorventes), Lgr5 (um marcador para células-tronco intestinais), bem como Hes1 e Math1, esses últimos fatores conhecidos por direcionar a diferenciação epitelial intestinal

nas duas principais linhagens: a linhagem secretora, respectivamente. Curiosamente, a suplementação de melatonina aumentou ($p = 0,003$) a abundância protéica de CHGA no íleo (Ren, Wenkai et al, 2018).

4. Considerações Finais

A pós análise dos resultados da revisão sistemática dos trabalhos tendo como base ação da melatonina frente ao intestino delgado de camundongos que foram desmamados precocemente. Só foi encontrado um artigo. Este estudo foi realizado para explorar se a melatonina alivia o estresse do desmame através da microbiota em modelos de camundongos com desmame. A suplementação de melatonina em camundongos desmamados melhorou significativamente o ganho corporal, e a morfologia intestinal (comprimento das vilosidade e profundidade das criptas e razão entre as vilosidades e criptas) mas teve pouco efeito na proliferação, ou apoptose das células intestinais, números de células Paneth e células calciformes, bem como na expressão de fabricantes relacionados a enterócitos e células endócrinas. Diante de poucos trabalhos com relatos da ação da melatonina frente ao intestino delgado de camundongos que foram desmamados precocemente. Sendo assim a partir destas informações estamos desenvolvendo uma proposta para investigar o efeito da melatonina exógena frente ao trato digestório (estômago, intestino delgado, fígado e pâncreas) de camundongos submetidos ao desmame precoce.

Referências

Arslanoglu, S., Bertino, E., Nicocia, M., & Moro, G. (2012). WAPM working Group on a Nutrition: potential chronobiotic role of human milk in sleep regulation. *J Perinat Med* 40, 1–8.

Bivolarski, B. L., & Vachkova, E. G. Morphological and functional events associated to weaning in rabbits. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 98, 1, 9-18, 2014.

Brainard, G. C., et al. "The suppression of pineal melatonin content and N-acetyltransferase activity by different light irradiances in the Syrian hamster: a dose-response relationship." *Endocrinology* 113.1 (1983). 293-296.

Cohen, E. A., Hadash, A., Shehadeh, N., & Pillar, G. (2012) Breast -feeding may improve nocturnal sleep and reduce infantile colic: potential role of breast milk melatonin. *e ur J Pediatr* 171, 729–732.

Crispel, Y., et al. "Effect of weaning age on the small intestine mucosa of rats." *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism* 44.9 (2019): 985-989.

Cubero, J., et al. O ritmo circadiano do triptofano no leite materno afeta os ritmos da 6-sulfatoximetatonina e o sono no recém-nascido. *Neuroendocrinology Letters*, 26(6), 657-662, 2005.

De Talamoni, N. T., et al. Melatonin, Gastrointestinal Protection, and Oxidative Stress. In: *Gastrointestinal Tissue*. Academic Press, 2017. 317-325.

Illnerova, H., Buresova, M., Presl, J. (1993) Melatonin rhythm in human milk. *J Clin Endocrinol Metab* 77, 838–841.

Jaldo-Alba, F., et al. A privação de luz aumenta os níveis plasmáticos de melatonina durante as primeiras 72 horas de vida em bebês humanos. *Revista Européia de Endocrinologia*, 129(5), 442-445.

Jan, J., Wasdell, M. B., Freeman, R. D., Bax, M. (2007) e vidence supporting the use of melatonin in short gestation infants. *J Pin -eal Res* 42, 22–27.

Kikusui, T., Kiyokawa, Y., & Mori, Y. Deprivation of mother–pup interaction by early weaning alters myelin formation in male, but not female, ICR mice. *Brain research*, 1133, 115-122, 2007.

Montagne, L., Boudry, G., Favier, C., et al. Main intestinal markers associated with the changes in gut architecture and function in piglets after weaning. *Br J Nutr*.2007; 97, 45-57.

Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J., & Shitsuka, R. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*.

Oliveira, L. D. S., Souza, S. L. D., Castro, R. M. Behavioral satiety sequence: an experimental model for studying feeding behavior. *Revista de Nutrição*, 24, 4, 619- 628, 2011 “B”.

Oliveira, L. S., Silva, L. P., Silva, A. I., Magalhães, C. P., Souza, S. L., Castro, R. M. Effects of early weaning on the circadian rhythm and behavioral satiety sequence in rats. *Behavioural processes*, 86, 1, 119-124, 2011 “A”.

REN, W., et al. Melatonin alleviates weanling stress in mice: Involvement of intestinal microbiota. *Journal of pineal research*. 2018; 64, e12448.

Sahin, L., & Mariana, G. F. "Alerting effects of short-wavelength (blue) and long-wavelength (red) lights in the afternoon." *Physiology & behavior* 116 (2013): 1-7.

Wang, J., Zeng, L., Tan, B., et al. Developmental changes in intercellular junctions and Kv channels in the intestine of piglets during the suckling and post-weaning periods. *J Anim SciBiotechnol*.2016; 7:4.

Weaver, L. T. Milk and the neonatal gut: comparative lessons to be learnt. *Equine veterinary journal*, 18, 6, 427-429, 1986.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Marcos Aurélio Santos da Costa – 20%

Rodrigo Reges dos Santos Silva – 10%

Maria Eduarda Silva – 10%

Luiz Henrique da Silva Linhares – 5%

Thiago Oliveira Nascimento – 5%

Maria Luísa Figueira de Oliveira 5%

José Anderson da Silva Gomes 5%

Tainá Maria Santos da Silva 5%

Renatha Claudia Barros Sobreira 5%

Juliana Pinto de Medeiros – 10%

Fernanda Chagas Angelo Mendes Tenorio – 10%

Sônia Pereira Leite - 10 %