



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE LICENCIATURA PLENA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**“EFEITO DA MELATONINA SOBRE O PULMÃO DE RATAS INDUZIDAS AO
DIABETES”**

FELIPE DE ALBUQUERQUE MATOS

RECIFE
2023

FELIPE DE ALBUQUERQUE MATOS

**“EFEITO DA MELATONINA SOBRE O PULMÃO DE RATAS INDUZIDAS AO
DIABETES.”**

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

Orientador: Prof^o Dr^o Álvaro Aguiar Coelho Teixeira

Coorientadora: Profa. Dra. Valeria Wanderley Teixeira

RECIFE

2023

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

M433e Matos, Felipe de Albuquerque
Efeito da melatonina sobre o pulmão de ratas induzidas ao diabetes / Felipe de Albuquerque Matos. -
2023.
46 f.

Orientador: Alvaro Aguiar Coelho Teixeira.
Coorientadora: Valeria Wanderley Teixeira.
Inclui referências.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Licenciatura em Ciências Biológicas, Recife, 2023.

1. Melatonina. 2. Diabetes. 3. Pulmão. 4. Gestação. 5. Ratas. I. Teixeira, Alvaro Aguiar Coelho, orient. II.
Teixeira, Valeria Wanderley, coorient. III. Título

FELIPE DE ALBUQUERQUE MATOS

**“EFEITO DA MELATONINA SOBRE O PULMÃO DE RATAS INDUZIDAS AO
DIABETES.”**

Comissão Avaliadora:

Profº Drº Álvaro Aguiar Coelho Teixeira – UFRPE
Orientador

MSc Maria Vanessa da Silva – UFRPE
Titular

Dr. Érique Ricardo Alves– UFRPE
Titular

MSc Bruno José do Nascimento– UFRPE
Suplente

RECIFE

2023

AGRADECIMENTOS

1
2
3 É com imensa felicidade que expresso os meus mais sinceros
4 agradecimentos a todos que, de alguma forma, contribuíram para que não
5 apenas este trabalho, mas também a jornada até a linha de chegada fosse
6 possível.

7 Primeiramente, gostaria de expressar minha gratidão a Deus por me
8 proporcionar não só a realização deste sonho, mas por ter me concedido
9 tenacidade e pessoas incríveis que me auxiliaram a torná-lo realidade.
10 Agradeço por ter me abençoado e por ter me providenciado não somente força,
11 mas também referências fundamentais, como meus amados pais, Valdenice
12 Gomes e Hélio Mendes. Eles me inspiraram diariamente a prosseguir nesta
13 imensa jornada que é a vida.

14 Cada uma das minhas conquistas possui suas raízes na minha amada
15 mãe, Valdenice Gomes, que sempre me inspirou e motivou em direção a
16 diversas vitórias e objetivos. Ela é a minha base e minha fonte diária de força.
17 Agradeço profundamente por personificar o verdadeiro significado de mãe em
18 todas as dimensões e por estar sempre disposta a enfrentar as batalhas da
19 vida ao meu lado. Você é o principal pilar desta conquista.

20 Quero expressar também minha gratidão ao meu pai, Hélio Mendes,
21 que, mesmo não estando mais presente fisicamente, permanecerá
22 eternamente em mim. Ele foi o ponto de partida para que este sonho se
23 tornasse realidade, sendo também a minha maior fonte de motivação pessoal.
24 O senhor serviu de inspiração, demonstrando como ser uma pessoa
25 incansável, esforçada e determinada a perseguir os seus objetivos. Agradeço
26 por ter sido um pai notável durante sua vida.

27 Desejo agradecer de coração à minha prima Taciana Christine, que
28 também esteve ao meu lado durante toda esta jornada, sempre oferecendo seu
29 apoio incondicional.

30 À minha namorada, Thayna Pinheiro, expresso minha profunda gratidão
31 por sua presença constante em todos os momentos da minha vida. Seu apoio e
32 encorajamento foram a minha âncora, me proporcionando a força e motivação
33 necessárias para enfrentar qualquer obstáculo. Você foi um elemento

34 fundamental em toda a minha caminhada e sem dúvidas, um farol na minha
35 vida.

36 Expresso minha apreciação aos meus sogros, Wilima Pinheiro e Djalma
37 Santos, pessoas incríveis que estiveram ao meu lado e que, com grande
38 felicidade, posso chamar de família.

39 Gostaria também de estender meus agradecimentos aos professores
40 Álvaro Aguiar e Valéria Wanderley. Suas orientações, ensinamentos e apoio
41 foram essenciais para a realização deste trabalho, fornecendo-me tudo o que
42 foi necessário e compartilhando valiosos conhecimentos.

43 Aos meus amigos de longa data, que sempre estiveram presentes em
44 minha vida, proporcionando leveza e descontração nos momentos difíceis,
45 expresso minha sincera gratidão. Especialmente a Vinicius Nascimento,
46 Mateus Holanda, Raphael Everaldo, Gabriel Café, Iago Nicolas, João Pedro,
47 Marcos Vinicius, João Accioly, Evandro Júnior e Leticia Mignac.

48 Também tenho uma imensa gratidão pelos meus companheiros de
49 jornada na UFRPE, que tornaram a caminhada mais divertida. Especialmente a
50 José Jamesson, Arthur Felipe, Richard Cruz, Amanda Roma, Cibelly Diodato,
51 Daniel Arlindo, Eduardo Rangel, Ewerthon Deywid e Dário Barbosa.

52 Além disso, agradeço profundamente aos meus colegas do LABEMOVI,
53 em especial a Bruno, Vanessa, Erique, Anthony, Yasmim e Alef, pelo
54 compartilhamento de conhecimentos e pela ajuda incansável.

55 Minha gratidão também se estende aos professores Vagne de Melo e
56 Flávia Lins, que não só me inspiraram, mas também compartilharam
57 conhecimento. Através de suas orientações e conselhos, tornaram esta
58 conquista possível. Ambos foram guias essenciais para minha formação
59 acadêmica.

60 Ademais, gostaria de também agradecer ao meu cachorro Lion e aos
61 meus gatos Chupisco e Pepito por seu amor incondicional.

62 No mais, considero-me extremamente afortunado por tê-los em minha vida, e
63 quero que saibam que cada um de vocês desempenhou um papel crucial na
64 concretização desta monografia. Obrigado a todos!

65 **LISTA DE FIGURAS**

66

67 **Figura 1:** Fotomicrografia dos pulmões dos animais dos grupos experimentais.
68 A-B grupo GC: bronquíolo (B) bem preservado e alvéolos com septos delgados
69 (seta longa). C-D grupo GD: desorganização do bronquíolo (B) e
70 espessamento da parede alveolar (seta curta). E-F grupo GDM: arquitetura
71 pulmonar semelhante ao grupo GC. Coloração H.E.39

72

73 **Figura 2:** Fotomicrografia dos pulmões dos animais dos grupos experimentais.
74 GC (A-B), GD (C-D) e GDM (E-F). Verificar marcação na parede dos
75 bronquíolos (seta longa) e dos vasos sanguíneos (seta curta) em todos os
76 grupos experimentais. No grupo GD (C-D) verificou-se marcação mais
77 acentuada no colágeno nos septos alveolares em relação aos demais grupos.
78 Coloração Tricrômico de Mallory.40

79

80 **Figura 3:** Quantificação do colágeno total nos pulmões dos animais dos grupos
81 experimentais. O grupo GD apresentou o maior teor em relação aos demais
82 grupos. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem significativamente
83 entre si pelo teste de múltiplas de Tukey e Kramer ($P < 0,05$).
8441

85

86

87

88

89

90

91

92

93

94

95

96

97

98

100	RESUMO	13
101	ABSTRACT	14
102	1. INTRODUÇÃO	15
103	2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
104	2.1 Diabetes mellitus.....	18
105	2.2 Diabetes no Brasil e no Mundo.....	20
106	2.3 Complicações do diabetes.....	21
107	2.4 Pulmões.....	24
108	2.5 Efeitos da diabetes mellitus no pulmão.....	26
109	2.6 Melatonina.....	28
110	2.7 Diabetes e Melatonina.....	31
111	3. OBJETIVOS	33
112	3.1 Geral.....	33
113	3.2 Específico.....	33
114	4. MATERIAL E MÉTODOS	34
115	4.1 Obtenção dos Animais.....	34
116	4.2 Acasalamento dos Animais.....	35
117	4.3 Indução do Diabetes.....	35
118	4.4 Tratamento com Melatonina.....	35
119	4.5 Microscopia de Luz.....	36
120	4.6 Histoquímica para o Colágeno.....	36
121	4.7 Análise estatística.....	37
122	5. RESULTADOS	38
123	6. DISCUSSÃO	42
124	7. CONCLUSÃO	44
125	8. REFERÊNCIAS	45

RESUMO

O desenvolvimento do diabetes durante a gestação pode gerar distúrbios como as complicações respiratórias. A melatonina tem sido reportada com ação protetora sobre vários órgãos em indivíduos diabéticos. Assim, a hipótese de que a melatonina possa prevenir alterações na histoarquitetura pulmonar de ratas diabéticas foi avaliada. Para isso, foram utilizadas 30 ratas albinas (*Rattus norvegicus albinus*), com 90 dias de idade procedentes do Biotério do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, divididas nos seguintes grupos: Grupo Controle (GC): ratas não induzidas ao diabetes, Grupo diabético (GD): ratas induzidas ao diabetes e, Grupo Diabetes Melatonina (GDM): ratas induzidas ao diabetes e tratadas com melatonina. O diabetes foi induzido por uma injeção de estreptozotocina na dosagem de 60 mg/kg em cada rato. A melatonina foi administrada na dosagem de 0,8 mg/Kg. Os animais do grupo GC apresentaram arquitetura pulmonar sem alterações histopatológicas, com bronquíolos apresentando camada mucosa de tecido epitelial, lâmina própria de tecido conjuntivo frouxo e músculo liso, além de alvéolos com septos delgados. No grupo GD verificaram-se alterações histopatológicas caracterizadas pela desorganização do bronquíolo e espessamento da parede alveolar. O tratamento com melatonina (grupo GDM) promoveu uma arquitetura pulmonar semelhante ao grupo GC. A análise histoquímica para o colágeno revelou marcação na parede dos bronquíolos e dos vasos sanguíneos em todos os grupos experimentais. Entretanto, no grupo GD verificou-se marcação mais acentuada no colágeno nos septos alveolares em relação aos demais grupos, o que foi confirmado pela quantificação. Assim, concluímos que a melatonina pode ser uma alternativa na prevenção do desenvolvimento de complicações pulmonares induzidas pelo diabetes.

Palavras chaves: Hiperglicemia, pineal, gestação, ratas, pulmão.

160
161
162
163
164
165
166
167
168
169
170
171
172
173
174
175
176
177
178
179
180
181
182
183
184
185
186

ABSTRACT

The development of diabetes during pregnancy can lead to disorders such as respiratory complications. Melatonin has been reported to have a protective effect on various organs in diabetic individuals. Therefore, the hypothesis that melatonin may prevent alterations in the pulmonary histoarchitecture of diabetic rats was evaluated. For this, 30 albino rats (*Rattus norvegicus albinus*), 90 days old, from the Animal Morphology and Physiology Department's animal facility at the Federal Rural University of Pernambuco, were divided into the following groups: Control Group (GC): non-induced diabetic rats, Diabetic Group (GD): rats induced with diabetes, and Diabetes Melatonin Group (GDM): rats induced with diabetes and treated with melatonin. Diabetes was induced by an injection of streptozotocin at a dosage of 60 mg/kg in each rat. Melatonin was administered at a dosage of 0.8 mg/kg. The animals in the GC group exhibited pulmonary architecture without histopathological alterations, with bronchioles showing a mucosal layer of epithelial tissue, a lamina propria of loose connective tissue, and smooth muscle, as well as alveoli with thin septa. In the GD group, histopathological alterations characterized by bronchiole disorganization and thickening of the alveolar wall were observed. Melatonin treatment (GDM group) promoted pulmonary architecture similar to the GC group. Histochemical analysis for collagen revealed staining in the bronchiole and blood vessel walls in all experimental groups. However, the GD group showed more pronounced collagen staining in the alveolar septa compared to the other groups, which was confirmed by quantification. Thus, we conclude that melatonin may be an alternative in preventing the development of diabetes-induced pulmonary complications.

Keywords: Hyperglycemia, pineal, gestation, rats, lung.

187 1. INTRODUÇÃO

188 O diabetes mellitus (DM) é uma doença crônica de evolução insidiosa e
189 progressiva que é caracterizada pela hiperglicemia crônica, devido a problemas na
190 síntese ou, no mecanismo de ação do hormônio insulina, que é produzido no pâncreas e
191 tem como sua principal função, regular a absorção de glicose pelas células do corpo
192 (ROMANÍ-PÉREZ et al., 2015). A atuação deficitária, ou, ausente deste hormônio leva ao
193 estado crônico de hiperglicemia. Este efeito faz com que o diabetes possa desencadear
194 graves problemas de saúde incluindo danos aos nervos, aos rins e doenças
195 cardiovasculares (ZHANG et al., 2021a).

196 Segundo a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD), a classificação correta do DM
197 acarreta em um tratamento adequado e também, define estratégias para rastreamento da
198 mesma, evitando complicações crônicas. Por isso, o diabetes deve ser classificado
199 segundo sua etiopatogenia. Por conta disto, desde os tipos mais conhecidos como o
200 diabetes tipo 1 (DM1), diabetes tipo 2 (DM2) e diabetes gestacional (DMG) até outros
201 tipos de diabetes mais desconhecidas, como por exemplo, diabetes neonatal (RODACKI
202 et al., 2022).

203 Dentre as variantes que possuem mais ocorrências, o DM2 e o DM1 são os tipos
204 mais frequentes. O DM2 é o tipo mais comum e, está sempre associada à obesidade e ao
205 envelhecimento. Também é caracterizada por resistência à insulina juntamente com uma
206 deficiência parcial de secreção da insulina sintetizada pelas células β pancreáticas
207 (JACOBS, 1993). Já o DM1, é mais comum em crianças e adolescentes, tendo a
208 deficiência grave de insulina como sua marca. O que acontece, é que devido a destruição
209 das células β pancreáticas, não há síntese de insulina e por conta disto, está associada à
210 autoimunidade e, se faz necessária a insulinoaterapia (RODACKI et al., 2022).

211 No ano de 2021, foi constatado que havia aproximadamente 540 milhões de casos
212 de diabetes espalhados por todo o mundo. Entretanto, existe uma estimativa atual que até
213 o longínquo ano de 2045, existirão 783 milhões de casos se as tendências
214 contemporâneas perdurarem. A crescente do diabetes é alavancada por uma complexa
215 interação de diversos fatores socioeconômicos, genéticos e demográficos e também,
216 através dos níveis crescentes de obesidade, ausência de atividades física e dietas
217 saudáveis (RUZE et al., 2023)

218 Além disso, por causa do aumento de casos de DM2 e DM1, a saúde materna
219 associada ao diabetes vem ganhando cada vez mais atenção de pesquisadores devido
220 aos riscos de efeitos graves na saúde da mãe e, do seu filho (AMERICAN DIABETES
221 ASSOCIATION, 2012). Uma mulher grávida que já possua um dos dois tipos é
222 classificada como uma grávida portadora de diabetes. Entretanto, também existe a
223 possibilidade de que haja o desenvolvimento de outro tipo, o diabetes mellitus gestacional
224 (DMG), que normalmente se manifesta no segundo ou terceiro trimestre da gravidez. E,
225 ela é caracterizada por uma temporária intolerância à glicose. Tal intolerância é causada
226 pelo mau funcionamento das células β pancreáticas, responsáveis pela síntese da
227 insulina bem como, também há a possibilidade de ocorrer problemas hormonais na
228 placenta, também acarretando em DMG (CHOUDHURY et al., 2021).

229 Independentemente do tipo, sendo uma doença que afeta o metabolismo do corpo
230 humano, ela pode causar diversos tipos de complicações em diferentes órgãos, incluindo
231 o pulmão. Tanto a mãe, quanto o feto, ou qualquer portador de DM podem sofrer algum
232 tipo de complicação. Embora a relação entre o diabetes e o pulmão não seja tão
233 conhecida quanto outras complicações, estudos indicam que a diabetes pode afetar
234 negativamente a saúde respiratória (CHOUDHURY et al., 2021).

235 O diabetes pode causar uma série de problemas no pulmão, incluindo alterações no
236 sistema imunológico, inflamação, danos aos vasos sanguíneos e danos nos nervos. Tais
237 fatores culminam em uma série de complicações respiratórias, como infecções
238 respiratórias, dificuldade para respirar, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) e
239 apneia do sono, por exemplo. Além do mais, agrava outras doenças pulmonares
240 preexistentes, como asma e fibrose pulmonar, fazendo com que o tratamento se torne
241 mais difícil e, conseqüentemente, aumente o risco de complicações como perda da
242 função pulmonar até mesmo óbito (RAGURAMAN et al., 2021).

243 Entretanto, mesmo com os tratamentos que possuímos hoje em dia, ainda se busca
244 uma biomolécula que seja eficaz no tratamento do diabetes mellitus. Nesse contexto, um
245 hormônio produzido pela glândula pineal tem sido amplamente estudado devido seus
246 efeitos benéficos e terapêuticos (OTAMAS et al., 2020). Este hormônio é a melatonina,
247 que possui função de regular o ciclo circadiano e o sono, emerge como potencial aliada
248 no manejo do diabetes e suas implicações no pulmão devido as suas propriedades anti-
249 inflamatórias, antioxidantes, efeitos sob a insulina e, regulação da homeostase glicêmica
250 (BOUTIN et al. 2023). Assim, a hipótese de que a melatonina possa prevenir alterações
251 na histoarquitetura pulmonar de ratas diabéticas foi avaliada.

252

253

254

255

256

257

258

259

260 **2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

261 **2.1. DIABETES MELLITUS**

262 O diabetes mellitus é classificado como uma doença metabólica crônica que afeta a
263 forma como o corpo utiliza a glicose, levando à hiperglicemia. Segundo a etiopatogenia,
264 existem variados tipos de diabetes mellitus, cada um com características que permitem a
265 diferenciação dos tipos entre si, como por exemplo características clínicas, função
266 residual das células beta pancreáticas, resistência à insulina e outras características
267 sindrômicas (SEN; CHAKRABORTY, 2015). Dentre os tipos existentes, existem três tipos
268 que são mais comuns, o diabetes tipo 1 (DM1), o diabetes tipo 2 (DM2) e diabetes
269 gestacional (DMG) (RODACKI et al., 2022).

270 Para identificação do tipo de diabetes, um diagnóstico se faz necessário. Quanto
271 mais rápido for o diagnóstico, maior será a chance de controlar e prevenir complicações.
272 Existem diversos métodos de diagnóstico, entretanto no Brasil, a hiperglicemia deverá ser
273 detectada através dos métodos de identificação da glicemia plasmática em jejum, teste de
274 tolerância oral à glicose (TOTG) ou, a hemoglobina glicada (A1c) (COBAS et al., 2022).

275 O diabetes tipo 1(DM1) é classificado como uma condição autoimune que as
276 células beta-pancreáticas responsáveis pela produção da insulina sofrem destruição
277 parcial ou total pelo sistema imunológico. Por conta da destruição, não haverá insulina,
278 ou, insulina suficiente para regular a quantidade de glicose presente no sangue, ou seja, a
279 glicose se acumulará no mesmo e, as células não poderão utilizar adequadamente a
280 glicose, levando a hiperglicemia. O DM1 afeta mais comumente crianças e adolescentes
281 (PETERSMANN et al., 2019). Este tipo está mais associado à cetose e cetoacidose, ou
282 seja, devido à falta de insulina, isso leva a quebra excessiva de gordura resultando na
283 produção de corpos cetônicos que deixam o sangue ácido, afetando o pH e o deixando

284 mais baixo. Com isso, afetando várias reações químicas fundamentais que ocorrem em
285 nossas células em faixas específicas de pH. Este efeito causa a necessidade da
286 insulino-terapia plena desde o diagnóstico da doença para garantir que os níveis de
287 glicose no sangue sejam controlados (RODACKI et al., 2022).

288 No diabetes tipo 2 (DM2), as células possuem uma menor sensibilidade à insulina e
289 uma deficiência parcial de secreção pelas células beta-pancreáticas, também deste
290 mesmo hormônio. Além de ser relatado também, alterações na secreção de incretinas,
291 que são hormônios oriundos do intestino que estimulam a liberação da insulina (JACOBS,
292 1993). Devido a menor sensibilidade à insulina, o processo de absorção adequado de
293 glicose do sangue para as células, é prejudicado, levando ao aumento dos níveis de
294 glicose no sangue acarretando numa sobrecarga do pâncreas que começa a produzir
295 cada vez mais insulina para normalizar os níveis de glicose (MAGGIO; PI-SUNYER,
296 2003). Ao longo do tempo, este processo de compensação leva a uma deficiência relativa
297 da insulina. O DM2 possui sintomas como aumento da sede, aumento da frequência
298 urinária, fadiga, entre outros. Este tipo normalmente é associado à obesidade e ao
299 envelhecimento (JUAN et al., 2022).

300 Já o diabetes gestacional (DMG), é o tipo de diabetes que ocorre durante a
301 gravidez devido ao aumento da resistência insulínica que é causada pelos hormônios
302 gestacionais. Os fatores de risco deste tipo de diabetes para a mãe, são obesidade e
303 histórico familiar de diabetes (JENSEN et al., 2021). O diabetes gestacional começa a se
304 desenvolver no segundo ou terceiro trimestre da gravidez e está normalmente associada
305 a produção de alguns hormônios pela placenta que diminuem a efetividade da insulina em
306 reduzir os níveis de glicose no sangue levando a hiperglicemia (JOHNS et al., 2018). O
307 DMG requer cuidados especiais durante o período de gravidez já que pode causar uma
308 certa variedade de complicações tanto para mãe quanto para o bebê devido a sua

309 atuação sistêmica (SUN et al., 2021). Estas complicações oriundas da DMG, afetam tanto
310 a mãe quanto o seu filho. A mãe encara diversos riscos como por exemplo, o
311 desenvolvimento do DM2 após algumas semanas do parto, complicações durante a
312 gravidez como parto prematuro, desenvolvimento de síndrome metabólica que pode
313 causar obesidade abdominal, aparecimento de pré-eclâmpsia que é uma condição
314 caracterizada por pressão arterial elevada juntamente com a presença de proteínas na
315 urina, entre outros (JUAN et al., 2022) Já o bebê poderá desenvolver macrosomia, que é
316 caracterizada pelo aumento anormal do bebê, acarretando complicações durante o parto,
317 hipoglicemia neonatal resultante da produção exacerbada de insulina em resposta ao alto
318 nível de glicose da mãe, distúrbios respiratórios como síndrome do desconforto
319 respiratório (SDR) ou síndrome de aspiração mecônio (SAM) e risco de obesidade e
320 desenvolvimento de diabetes tipo 2 (DM2) no futuro (KC; SHAKYA; ZHANG, 2015).

321

322 **2.2. DIABETES NO BRASIL E NO MUNDO**

323 Classificada como uma doença crônica e complexa que afeta milhões de pessoas
324 em todo o mundo, o diabetes se tornou uma grande preocupação de saúde pública devido
325 a diversos fatores como sedentarismo, envelhecimento da população e principalmente,
326 péssimos hábitos alimentares (MAGGIO; PI-SUNYER, 2003).

327 Considerado o terceiro maior fator de risco para mortalidade prematura, perdendo
328 apenas para hipertensão arterial e tabagismo, o diabetes segue crescendo no mundo
329 todo. Desde 1980 até o ano de 2021, o número de casos aumentou de 108 milhões para
330 a incrível marca de 540 milhões (O'HEARN et al., 2023). Destes 540 milhões de pessoas
331 afetadas pela doença, aproximadamente 90% dos casos são de DM2, o que pode ser
332 facilmente associado ao fato de que o número de pessoas com obesidade ascendeu de

333 forma incrível de 100 milhões para 764 milhões já que o DM2 e a obesidade estão
334 estritamente relacionados (GENG et al., 2023).

335 No Brasil, de acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD), existem cerca
336 de 13 milhões de pessoas afetadas pela doença. Estatisticamente, tal valor representa
337 aproximadamente 6,9% da população nacional e desta porcentagem, aproximadamente 5
338 a 10% estão concentrados na DM1, cerca de 90% no DM2 e entre 2 a 4% são afetados
339 pelo DMG (COBAS et al., 2022).

340 Além de trazer diversos malefícios para os indivíduos portadores da doença, o
341 diabetes também causa problemas econômicos no Brasil e no mundo. Em 2010, o DM
342 causou um gasto de aproximadamente US\$ 500 bilhões ao redor do mundo, com previsão
343 de que seja alcançado mais de US\$ 744 bilhões até o ano de 2030. No Brasil, os gastos
344 com saúde tendo como foco, o diabetes foram de mais de 264 milhões de US\$ apenas no
345 ano de 2014 (PEREDA et al., 2022).

346

347 **2.3. COMPLICAÇÕES DO DIABETES**

348 Como uma doença sistêmica, o diabetes possui efeitos em todo corpo. Em caso de
349 não haver um controle adequado de enfermidade, o mesmo poderá causar uma série de
350 complicações graves que podem atingir os mais variados tecidos e órgãos. Estas podem
351 ser divididas em agudas e crônicas, como por exemplo a cetoacidose diabética
352 normalmente causada devido ao DM1 no caso das agudas e, doença arterial coronariana
353 no caso das crônicas (JUAN et al., 2022).

354 O diabetes mellitus (DM), associado a uma variedade de complicações, exerce um
355 impacto substancial, sobre o sistema nervoso, rins, nervos e principalmente o sistema
356 cardiovascular e circulatório, já que ambos estão intimamente interligados. No contexto

357 dos sistemas cardiovascular e circulatório, o DM se correlaciona frequentemente com
358 uma gama abrangente de implicações (KENNY; ABEL, 2019). Um exemplo notável é a
359 insuficiência cardíaca, uma condição na qual o coração não consegue propulsionar
360 sangue suficiente para suprir as demandas fisiológicas, resultando em sintomas como
361 fadiga, dispneia e retenção de líquidos nos tecidos (ROFFI; EBERLI, 2009).

362 Adicionalmente, o DM está intimamente ligado à aterosclerose, processo em que
363 placas de gordura, colesterol e outras substâncias se acumulam nas paredes arteriais,
364 desenvolvimento de hipertensão arterial, que aumenta a tensão nas artérias e no músculo
365 cardíaco, bem como à doença vascular periférica, dado que o diabetes desencadeia
366 lesões vasculares diretas comprometendo o fluxo sanguíneo nos membros inferiores e
367 nos pés, aumentando, assim, o risco de infecções e amputações, entre outras
368 complicações (SCHÜTT et al., 2022).

369 A quantidade significativa de doenças e complicações causadas ao coração, vasos
370 sanguíneos e pulmões se dá por inicialmente a disfunção cardíaca, na maioria das vezes,
371 ser silenciosa e dificilmente ser detectada até que a doença esteja em um estado mais
372 desenvolvido (SEVERINO et al., 2019). Devido ao estresse oxidativo, ação inflamatória e
373 outros efeitos causados pelo estado de hiperglicemia crônica da DM, o coração tende a
374 sofrer remodelação, contribuindo para deficiências funcionais. Alguns dos efeitos mais
375 evidenciados são a fibrose cardíaca, devido ao aumento da deposição de colágeno
376 intersticial tipos I e III, a hipertrofia cardíaca com aumento da massa do ventrículo
377 esquerdo também associado a fibrose e perfusão microvascular coronária já que há um
378 prejuízo no fluxo coronariano (RITCHIE; ABEL, 2020).

379 Além do mais, o DM tem sido associado a complicações nos rins, já que pode
380 causar um processo conhecido como nefropatia diabética devido ao estado de
381 hiperglicemia constante sob os vasos sanguíneos e glomérulos nos rins. (ALICIC et al.,

382 2021). Os danos aos rins podem ser significativos. Mediante as condições do DM, um
383 dano pode ser causado aos glomérulos, prejudicando sua função de filtragem levando à
384 retenção de proteínas e outros produtos residuais no sangue que pode acarretar em
385 outras doenças. Além do mais, problemas como inflamação, fibrose e pressão sanguínea
386 elevada, também podem ser diagnosticadas quando o DM afeta os rins (AKHTAR et al.,
387 2020).

388 O sistema nervoso e seus nervos também são afetados pelos níveis elevados de
389 glicose no sangue causado pelo DM. Conhecida como neuropatia diabética, tal condição
390 pode demonstrar sintomas como dano aos nervos sensitivos e motores, disfunção
391 autonômica, dor neuropática e danos autonômicos cardíacos (FELDMAN et al., 2019).

392 O sistema respiratório também é afetado por este estado hiperglicêmico constante,
393 visto que o mesmo possui uma grande quantidade de vasos que são fundamentais para o
394 seu pleno funcionamento e o DM consegue causar alterações nestes vasos, afetando
395 processos fundamentais tais como a circulação pulmonar e a ventilação pulmonar (ONK
396 et al., 2018).

397 Ademais a todos os efeitos em tecidos e órgãos, estudos recentes sugerem que as
398 diferenças de sexo também são importantes na epidemiologia e fisiopatologia da DM e
399 por causa disso, existem algumas diferenças nas manifestações e no impacto da doença
400 em cada gênero (TAO; SHI; ZHAO, 2015). Tais divergências são causadas pelas
401 diferenças dos cromossomos sexuais, suas expressões gênicas específicas, fatores
402 hormonais específicos em cada indivíduo e diferenças culturais e de estilo de vida. Por
403 exemplo, o DM2 é mais frequentemente diagnosticado em homens com idade mais baixa
404 e índice de massa corporal reduzido. Porém, é importante destacar que o maior fator de
405 risco para o desenvolvimento do DM2, a obesidade, é mais prevalente entre as mulheres
406 (KAUTZKY-WILLER; HARREITER; PACINI, 2016).

407

408 **2.4. PULMÕES**

409 Os pulmões são órgãos vitais para o bom funcionamento do sistema respiratório
410 humano. Eles estão localizados na cavidade torácica e ocupam toda ela, deixando um
411 espaço para o coração, grandes vasos, traqueia, esôfago, timo e linfonodos torácicos
412 denominado de mediastino (ZEHTABVAR et al., 2023). Os pulmões, esquerdo e direito,
413 possuem estrutura complexa, variadas regiões e lobos que garantem o funcionamento do
414 sistema respiratório. Anatomicamente, cada pulmão possui um ápice; que é a
415 extremidade superior e arredondada, uma base que é a superfície inferior e côncava a
416 qual se apoia no diafragma, lobos que são grandes divisões dos pulmões, faces e
417 margens. Além disso, são leves, esponjosos e rosados em pessoas que possuem
418 pulmões saudáveis (WEIBEL, 2017). Por causa da localização do coração e outras
419 estruturas serem no espaço entre os dois pulmões(mediastino), tanto o pulmão esquerdo,
420 quanto o direito, possuem morfologia e tamanho um pouco diferentes ainda que possuam
421 estruturas semelhantes (LEE, 2009).

422 Estas estruturas semelhantes são fundamentais para o funcionamento destes
423 órgãos. O hilo, é uma depressão da qual vasos sanguíneos, linfáticos e nervos encontram
424 entrada e saída de cada pulmão. Além disso, o hilo também é uma região de entrada de
425 um brônquio principal de cada pulmão que são classificados como extrapulmonares e
426 estes, internamente, se ramificam até chegar a nível de bronquíolos respiratórios que se
427 conectarão com alvéolos individuais ou múltiplos. Todo este complexo recebe a
428 nomenclatura de raiz do pulmão, que o sustenta na caixa torácica e mantém estruturas
429 como os grandes vasos sanguíneos, nervos e vasos linfáticos posicionados (HUBER,
430 1949).

431 Além do hilo, os pulmões também possuem as pleuras que são membranas de
432 tecido conjuntivo que revestem as cavidades de cada pulmão e, sua superfície externa. É
433 como uma espécie de saco formado por uma membrana serosa que reveste cada pulmão
434 (VIEIRA BRAGA et al., 2019). As pleuras existentes em cada pulmão são a pleural
435 visceral, que é mais profunda e está em contato com toda superfície dos órgãos
436 revestindo-os e, a pleura parietal que é adjacente às paredes das cavidades pulmonares,
437 ou seja, é uma pleura superficial em relação a pleura visceral (TYLER, 1983).

438 O pulmão direito é um pouco maior e mais pesado que o esquerdo e mais curto e
439 largo por conta de a cúpula direita do diafragma ser mais alta (VIEIRA BRAGA et al.,
440 2019). Ele é segmentado em três lobos: superior, médio e inferior, os quais são
441 separados pelas fissuras oblíqua e horizontal. Já o pulmão esquerdo como dito
442 anteriormente, é ligeiramente menor que o direito e, possui uma incisura cardíaca
443 profunda, ou seja, um desvio na sua margem anterior já que ele acomoda o coração.
444 Além do mais, o pulmão esquerdo possui apenas dois lobos, o superior e inferior e, são
445 divididos pela fissura oblíqua (LINDNER; SAUNDERS, 1952).

446 Ambos os pulmões, como órgãos vitais do sistema respiratório, possuem um papel
447 fundamental na sobrevivência de seres humanos e outros animais. São responsáveis pelo
448 mecanismo de ventilação pulmonar, que é dividido em inspiração, etapa em que o ar flui
449 para os pulmões e, expiração no qual ocorre a eliminação de gases (PIIPER, 1982). Tal
450 mecanismo permite que ocorra a hematose, ou seja, o processo em que há trocas
451 gasosas nos alvéolos pulmonares que por possuírem uma grande rede de capilares
452 recobrando-os, facilitam o contato entre o sangue e o ar fazendo com que ocorra a difusão
453 dos gases. Com isso, o gás carbônico (CO₂) é eliminado na expiração e o oxigênio (O₂) é
454 difundido no interior das capilares (HSIA; HYDE; WEIBEL, 2016).

455 Ademais, os pulmões também possuem uma relevante função interligada ao
456 sistema circulatório. Eles, juntamente com o sistema circulatório são responsáveis pela
457 pequena circulação, ou, circulação pulmonar que é um importante processo de
458 oxigenação do sangue oriundos dos tecidos e órgãos. O processo é iniciado no ventrículo
459 direito do coração, quando ele recebe o sangue desoxigenado do átrio direito. O sangue
460 recebido é direcionado até a artéria pulmonar que possui duas ramificações, uma
461 interligada a cada pulmão. Este vaso se ramifica internamente em arteríolas em cada
462 pulmão até chegar aos capilares pulmonares, lugar onde acontecerá a troca gasosa entre
463 o sangue e o ar respirado (PIIPER, 1982). Após a oxigenação, o sangue é coletado pelas
464 vênulas pulmonares e será levado as veias pulmonares que transportam de volta ao átrio
465 esquerdo do coração, o qual enviará o sangue para o ventrículo esquerdo para o início da
466 grande circulação, com o sangue já oxigenado para todo o corpo fornecendo oxigênio e
467 nutrientes essenciais (PETERSSON; GLENNY, 2014).

468

469 **2.5 EFEITOS DO DIABETES MELLITUS NO PULMÃO**

470 Sendo classificada como doença metabólica crônica, o diabetes mellitus afeta todo
471 o corpo através da hiperglicemia causada pela não produção de insulina suficiente como
472 no DM1 ou, pela má utilização da insulina produzida como no DM2. Já foi evidenciado
473 que o diabetes pode afetar diversos órgãos do corpo humano, ou, até mesmos sistemas
474 completos como por exemplo o coração e o sistema cardiovascular aumentando o risco
475 de doenças cardiovasculares, os rins causando insuficiência renal crônica, entre outros.
476 (WU, 2020).

477 Entretanto, pouco se fala dos danos que o diabetes mellitus não tratado ou mal
478 controlado causa nos pulmões. Alguns danos estão atrelados à uma doença pré-

479 existente, ou, uma doença desenvolvida pós diabetes (ZHANG et al., 2020), já que tal
480 patologia possui a capacidade de atenuar sintomas e complicações através de várias
481 maneiras como reduzir a função imunológica, tornando seres humanos mais propícios a
482 infecções pulmonares, aumento da inflamação por conta da hiperglicemia crônica, dano
483 as vasos sanguíneos que irrigam os pulmões, prejuízo na cicatrização dos tecidos
484 pulmonares após inflamações ou lesão e também, aumentando o risco de problemas no
485 geral (SÜDY et al., 2021).

486 Prova disso é a relação do diabetes mellitus com a doença pulmonar obstrutiva
487 crônica (DPOC), caracterizada por causar sintomas respiratórios contínuos devido a
488 limitação do fluxo de ar no sistema respiratório. Sendo, em 2019, a terceira doença que
489 mais leva a óbito no mundo, a DPOC está associada ao diabetes tipo 2 (DM2) de diversas
490 formas já que mecanismos patogênicos comuns conseguem favorecer o surgimento de
491 ambas as doenças em condições específicas (KATSIKI et al., 2021). Tais condições são,
492 a inflamação pulmonar que pode ser evidenciada devido a circulação de algumas
493 citocinas como a interleucina (IL-6) responsáveis pela sinalização, comunicação e
494 coordenação do sistema imune em resposta a inflamações e, a Proteína C Reativa (PCR)
495 produzida pelo fígado em resposta a uma inflamação no corpo, estresse oxidativo e
496 principalmente hipóxia e hiperglicemia (CHITIMUS et al., 2020).

497 Além do mais, dependendo do tratamento escolhido para a DPOC, este poderá ser
498 um possível causador de hiperglicemia como é o caso da prednisolona. Ademais, como
499 medida para tratar condições inflamatórias variadas, normalmente utiliza-se
500 corticosteroides que são hormônios esteroides produzidos nas glândulas suprarrenais que
501 possuem função de reduzir inflamações através da regulação do metabolismo e controle
502 da resposta imunológica. Tais substâncias foram associadas a criação de novos casos de
503 diabetes mellitus tipo 2 e, a progressão da mesma (KATSIKI et al., 2021).

504 Entretanto, mesmo sem doenças pré-existentes, o diabetes mellitus pode causar
505 complicações diretas aos pulmões por conta dos danos vasculares que tal doença causa.
506 Por conta das complicações se inserirem mais no âmbito microvascular, normalmente são
507 negligenciadas por conta da grande quantidade do sistema alvéolo-capilar e se tornam
508 subclínicas (ZHANG et al., 2020). Porém, mesmo que negligenciadas, tais consequências
509 são aparentes e trazem malefícios para qualidade de vida do indivíduo como perda de
510 uma reserva microvascular que prejudicará as trocas gasosas durante a ventilação
511 pulmonar acarretando em hipóxia, prejuízo na elasticidade pulmonar o que também
512 afetará o fornecimento de oxigênio tanto para os tecidos pulmonares quanto para todo
513 corpo e, numa perspectiva histopatológica, foi evidenciado o espessamento da lâmina
514 basal dos capilares pulmonares, epiteliais e alveolares (PITOCCO et al., 2012).

515

516 **2.6 MELATONINA**

517 Principalmente sintetizada pela glândula pineal localizada no cérebro, a melatonina
518 é um hormônio que é produzido principalmente durante a noite devido ao estímulo do
519 escurecer (VASEY; MCBRIDE; PENTA, 2021). Sendo rotulada popularmente como o
520 “hormônio do sono” devido as suas funções primordiais de promover o sono, o ritmo
521 biológico do corpo e de regular o ciclo circadiano, que é a cadência em que um organismo
522 realiza todas seus afazeres durante um dia, ou seja, a partir deste ciclo, nosso corpo
523 coordena processos fisiológicos fundamentais (POZA et al., 2022).

524 A biossíntese da melatonina ocorre através do aminoácido triptofano, que é o seu
525 precursor fundamental. Este é transformado em serotonina, um neurotransmissor e
526 substância química que está presente no sistema nervoso e em outras partes do corpo e
527 que possui o papel de regular várias funções fisiológicas e comportamentais

528 (BHATTACHARYA et al., 2019). Após sua conversão em serotonina, esta será
529 transformada em melatonina através de um processo com duas etapas de atividade
530 enzimática em que as enzimas serotonina-N-acetil transferase (NAT) e a hidroxindol-O-
531 metiltransferase (HIOMT) realizarão a conversão em melatonina (CLAUSTRAT; LESTON,
532 2015).

533 Tendo em vista todas as funções fisiológicas que a mesma desempenha e, através
534 dos mais variados estudos, a melatonina tornou-se um hormônio de alto interesse
535 científico pelas suas propriedades terapêuticas, principalmente as anti-inflamatórias e
536 antioxidativas. Desencadeando os mais variados tipos de pesquisas com o intuito de
537 avaliar seu potencial e aplicabilidade (CLAUSTRAT; LESTON, 2015). O principal efeito
538 terapêutico da melatonina, por conta da sua ação fisiológica de promover o sono é o de
539 auxiliar contra distúrbios que prejudicam o adormecer, como a insônia (ZISAPEL, 2018).
540 No tratamento contra insônia, atua como agente facilitador do sono, esta indolamina
541 utilizada como suplemento possui a função de reforçar os níveis naturais desse hormônio
542 ajudando no processo de adormecer (POZA et al., 2022)

543 Além da sua atuação contra distúrbios do sono, a melatonina tem demonstrado
544 uma ótima ação protetora em nível celular. Atuando como um notável antioxidante, é
545 associada à capacidade de neutralizar radicais livres, reduzir o estresse oxidativo,
546 combater a apoptose celular e estimular enzimas antioxidantes enquanto atua como
547 supressor da atividade enzimática de enzimas pró-oxidantes (REITER et al., 2016). A
548 redução destes fatores contribui para o combate do envelhecimento precoce e o
549 desenvolvimento das mais variadas doenças crônicas. A melatonina atua erradicando
550 diretamente os radicais que são centrados no oxigênio e, nas espécies reativas tóxicas de
551 oxigênio (MUÑOZ-JURADO et al., 2022). Além de também amenizar a mutilação oxidativa
552 com macromoléculas celulares. A atuação direta da melatonina na erradicação de radicais

553 livres possui diversos benefícios (GILAD et al., 1997). Um dos benefícios, é a sua atuação
554 perante o radical livre hidroxila (OH), que é altamente reativo e instável e que também
555 está associado ao estresse oxidativo. Ao atuar contra este radical livre, a melatonina
556 provém proteção contra agressão oxidativa, eliminando-o e resultando em um metabólito
557 que pode ser utilizado como biomarcador para monitoramento da geração de hidroxila
558 (TAN et al., 1998).

559 Além do mais, também foi evidenciado a regulação positiva da melatonina sob a
560 síntese de glutathione, um excelente antioxidante endógeno que é encontrado em diversos
561 organismos, como humanos. A glutathione é sintetizada pelas células do corpo sendo
562 composta por três aminoácidos: cisteína, glicina e ácido glutâmico. Possui atuação
563 antioxidante intracelular capaz de proteger as células contra danos oxidativos causados
564 por espécies reativas de oxigênio (ROS), além de outros radicais livres através da
565 erradicação dos mesmos e protegendo os componentes celulares vitais (URATA et al.,
566 1999). Outra capacidade também evidenciada da melatonina, é a de neutralizar
567 compostos tóxicos à base de nitrogênio, que são capazes de causar danos nitrosativos
568 que podem acarretar inflamação crônica, infecções e outras variadas condições
569 patológicas já que espécies reativas de nitrogênio podem reagir com diferentes moléculas
570 biológicas (REITER et al., 2016).

571 Ademais, a melatonina também tem sido associada à sua ação anti-inflamatória
572 devido ao seu potencial de combater os processos inflamatórios, podendo ser utilizada
573 como auxílio no tratamento de doenças cardiovasculares, distúrbios imunológicos, ou, a
574 depender de estratégias terapêuticas que buscam um objetivo específico (CHITIMUS et
575 al., 2020).

576

577 2.7 DIABETES E MELATONINA

578 O diabetes mellitus é uma doença metabólica crônica que afeta milhões de
579 pessoas em todo mundo. Sendo caracterizado pela hiperglicemia, tal doença causa uma
580 série de complicações como por exemplo danos ao coração, pulmão e vasos sanguíneos.
581 Além do mais, pode causar complicações em caso de doenças preexistentes ou que
582 foram desenvolvidas após a diabetes (LIU et al., 2020). Atualmente, os tratamentos para o
583 diabetes, apesar de terem evoluído bastante, são limitados e alguns, podem apresentar
584 efeitos colaterais. Dito isso, a busca por novas alternativas de tratamento surge com o
585 intuito de tratar a doença. Várias biomoléculas são testadas constantemente para atingir
586 tal objetivo (KARAMITRI; JOCKERS, 2019). Entretanto, a melatonina por suas
587 propriedades se mostra como uma alternativa viável e importante. Como um hormônio de
588 alto interesse médico devido às suas variadas propriedades terapêuticas, a melatonina
589 tem sido estudada e utilizada para os mais diversos fins (YAPISLAR et al., 2022). Uma
590 das finalidades, devido a sua associação com a diabetes, é a de combater esta doença
591 através das suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e do seu papel na
592 secreção de insulina e controle da glicose (KARAMITRI; JOCKERS, 2019).

593 Como citado anteriormente, este hormônio é um possível candidato ao combate do
594 diabetes mellitus devido as suas qualidades terapêuticas. A melatonina pode auxiliar no
595 controle dos índices glicêmicos no sangue, especialmente em pessoas com diabetes tipo
596 2. Já que possivelmente, ela demonstra exercer um efeito protetor nas células beta do
597 pâncreas, as quais secretam insulina (YAPISLAR et al., 2022). Além do mais, a
598 melatonina também pode influenciar na sensibilidade das células quanto a insulina, já que
599 ela pode reduzir a resistência à insulina, ajudando pessoas com DM2 (SHEN et al.,
600 2022a). Além do mais, através dos seus efeitos anti-inflamatórios, a melatonina ajuda a
601 combater a inflamação crônica que está associada ao diabetes mellitus, já que ao reduzir

602 a inflamação, a melatonina auxilia na proteção dos tecidos do corpo como as células beta
603 do pâncreas. Sabe-se ainda que seus efeitos antioxidantes são capazes de neutralizar
604 radicais livres altamente reativos que podem danificar células, reduzindo ou erradicando o
605 estresse oxidativo já que, o mesmo está associado ao desenvolvimento de doenças como
606 o diabetes e suas complicações (PATEL et al., 2022).

607

608

609

610

611

612

613

614

615

616

617

618

619

620

621

622

623

624 **3. OBJETIVOS**

625 3.1 Geral:

626 Avaliar a ação da melatonina sobre o pulmão de ratas induzidas ao diabetes durante a
627 gestação.

628 3.2: Especifico:

- 629 • Avaliar aspectos histopatológicos dos pulmões de ratas gestantes diabéticas.
630 • Analisar alterações histoquímicas nos pulmões de ratas gestantes diabéticas.

631

632

633

634

635

636

637

638

639

640

641

642

643

644

645 4. MATERIAL E MÉTODOS

646 O experimento foi realizado no laboratório de histologia do Departamento de
647 Morfologia e Fisiologia Animal (DMFA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco
648 (UFRPE).

649 4.1 Obtenção dos animais

650 Foram utilizadas 30 ratas albinas (*Rattus norvegicus albinus*), com 90 dias de idade,
651 virgens, pesando aproximadamente 250g, da linhagem Wistar, procedentes do Biotério do
652 Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, da Universidade Federal Rural de
653 Pernambuco (UFRPE). O experimento foi aprovado pela comissão de experimentação
654 animal (CEUA) da UFRPE, pela licença de nº 7692280420.

655 Os animais foram confinados em gaiolas e mantidos com alimentação e água *ad*
656 *libitum*, permanecendo no biotério a temperatura de 22°C e iluminação artificial, produzida
657 por lâmpadas fluorescentes (marca Phillips, modelo luz do dia, 40W), estabelecendo o
658 fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro, considerando o período de luz das 06:00
659 às 18:00 horas. Após um período de adaptação de sete dias, foram realizados esfregaços
660 vaginais para a determinação do ciclo estral. As fêmeas que apresentaram três ciclos
661 estrais consecutivos regulares foram divididas em três grupos:

662 Grupo controle (GC) – ratas prenhes não diabéticas e não tratadas com melatonina;

663 Grupo diabético (GD) – ratas prenhes diabéticas e não tratadas com melatonina;

664 Grupo diabetes melatonina (GDM) – ratas prenhes diabéticas e tratadas
665 simultaneamente com melatonina;

666

667 **4.2 Acasalamento dos Animais**

668 As fêmeas do experimento foram acasaladas na proporção de um macho para cada
669 três fêmeas, sempre no início da noite (18:00h). No dia seguinte foram realizados exames
670 vaginais nas ratas, sempre no período da manhã (06:00 h), para a confirmação do
671 acasalamento, tomando-se como parâmetro a presença de espermatozóides nas lâminas.
672 Este dia foi considerado como o primeiro dia de prenhez.

673 **4.3 Indução do Diabetes**

674 O diabetes foi induzido, após confirmação do acasalamento, por meio de
675 administração intraperitoneal de solução de estreptozotocina (Sigma Chemical Co., USA)
676 após jejum alimentar de 14 horas. A estreptozotocina foi diluída em tampão citrato de
677 sódio a 10 Mm e pH 4,5, na dosagem única de 60 mg/kg de peso do animal. Os animais
678 não diabéticos (GC) receberam da mesma forma, doses equivalentes de solução salina e
679 decorridos 30 minutos da administração todos os animais foram alimentados normalmente
680 (DALL'AGO et al., 2002). Foram incluídos no estudo apenas as fêmeas que apresentaram
681 glicose sanguínea acima de 200 mg/dL (Glicosímetro Kit Accu-Chek Activ), para início do
682 tratamento com a melatonina.

683 **4.4 Tratamento com Melatonina**

684 A melatonina, N-acetil-5-metoxitriptamina (Sigma Chemical Co. St. Louis, USA) foi
685 administrada em injeções diárias de 0,8 mg/Kg, por toda a gestação no grupo GDM. Para
686 tanto, a melatonina foi dissolvida em 0,2 mL de etanol e diluída em 0,8 mL NaCl a 0,9%.
687 As injeções foram aplicadas via intraperitoneal, sempre no período das 18:00 às 19:00h.
688 Esta dose é comparável a dosagem humana (9 mg/kg), a qual foi convertida com base na
689 área de superfície do corpo (Paget; Barne, 1994; Moustafa et al., 1999; Abd-Allah et al.,
690 2003).

691 **4.5 Microscopia de Luz**

692 Para coleta dos pulmões das matrizes, elas foram anestesiadas com hidrocloreto
693 de cetamina (80 mg/kg) e xilazina (6,0 mg/kg) por via intramuscular associadas ao
694 Tiopental (100 mg/kg) por via intraperitoneal. Em seguida, foi realizada a abertura da
695 cavidade abdominal para a remoção dos órgãos. Todos os materiais foram mergulhados
696 em formol tamponado, permanecendo no mesmo por 48 horas. Após esses
697 procedimentos foram desidratados em álcool etílico (concentrações crescentes),
698 diafanizados pelo xilol, impregnados e incluídos em parafina. Os blocos de parafina foram
699 cortados em micrótomo do tipo Minot (Leica RM 2035) ajustado para 5 µm. Os cortes
700 assim obtidos foram colocados em lâminas previamente untadas com albumina de Mayer
701 e mantidos em estufa regulada à temperatura de 37°C, durante 24 horas, para secagem e
702 colagem. Em sequência, os cortes foram submetidos à técnica de coloração pela
703 hematoxilina – eosina (H. E.), tricrômico de Mallory e analisados em microscópio de luz,
704 da marca OLYMPUS BX-49 e fotografados em microscópio OLYMPUS BX-50.

705 **4.6 Histoquímica para o colágeno**

706 Três lâminas, por grupo, coradas pelo tricrômico de Mallory foram fotografadas em
707 microscópio OLYMPUS BX-50. Foram capturados quatro campos por lâmina por meio de
708 câmera de Vídeo Sony®, acoplada ao microscópio. Em seguida as imagens foram
709 submetidas ao aplicativo Gimp 2.0 para a quantificação por meio de Histograma RGB
710 (Red-Green-Blue), o qual se baseia na intensidade de luminescência onde os tons dos
711 pixels da imagem variam de 0 a 255, sendo que o tom 0 representa o escuro absoluto
712 (menor luminescência), enquanto que o tom 255, representa o branco absoluto (maior
713 luminescência) (OBERHOLZER et al., 1996; LEE et al., 2001).

714

715 4.7 Análise estatística

716 Todos os dados foram submetidos a análise de variância, quando significante esta
717 foi complementada pelo teste de Comparações Múltiplas de Tukey e Kramer e adotado o
718 nível de significância de 0,05 ($p \leq 0,05$).

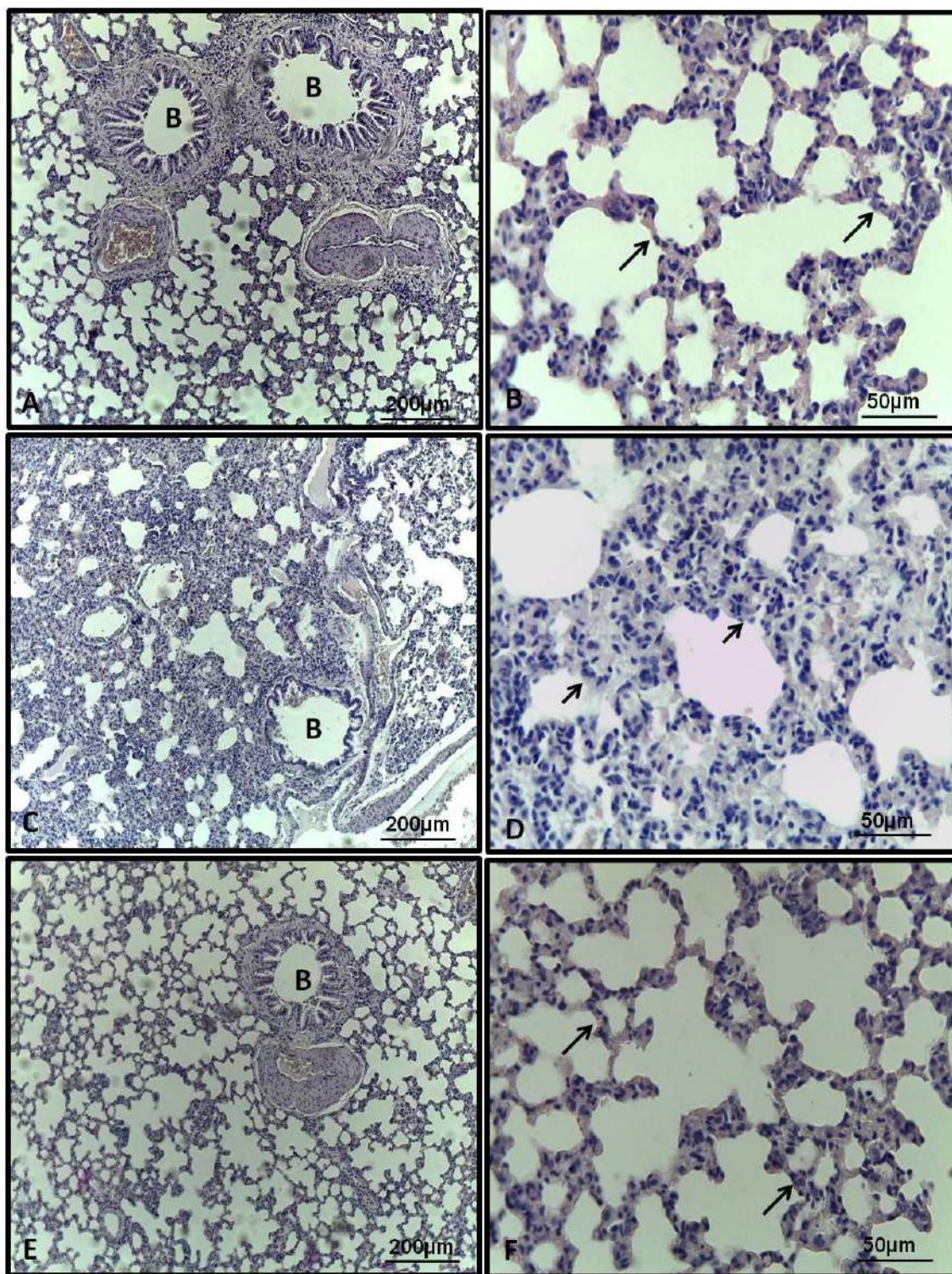
719

720 **5. RESULTADOS**

721 Os animais do grupo GC apresentaram arquitetura pulmonar sem alterações
722 histopatológicas, com bronquíolos apresentando camada mucosa de tecido epitelial,
723 lâmina própria de tecido conjuntivo frouxo e músculo liso, além de alvéolos com septos
724 delgados (Figuras 1 A e B). No grupo GD verificaram-se alterações histopatológicas
725 caracterizadas pela desorganização do bronquíolo e espessamento da parede alveolar
726 (Figuras 1 C e D). O tratamento com melatonina (grupo GDM) promoveu uma arquitetura
727 pulmonar semelhante ao grupo GC (Figuras 1 E – F).

728 A análise histoquímica para o colágeno revelou marcação na parede dos
729 bronquíolos e dos vasos sanguíneos em todos os grupos experimentais. Entretanto, no
730 grupo GD verificou-se marcação mais acentuada no colágeno nos septos alveolares em
731 relação aos demais grupos, o que foi confirmado pela quantificação (Figuras 2 e 3).

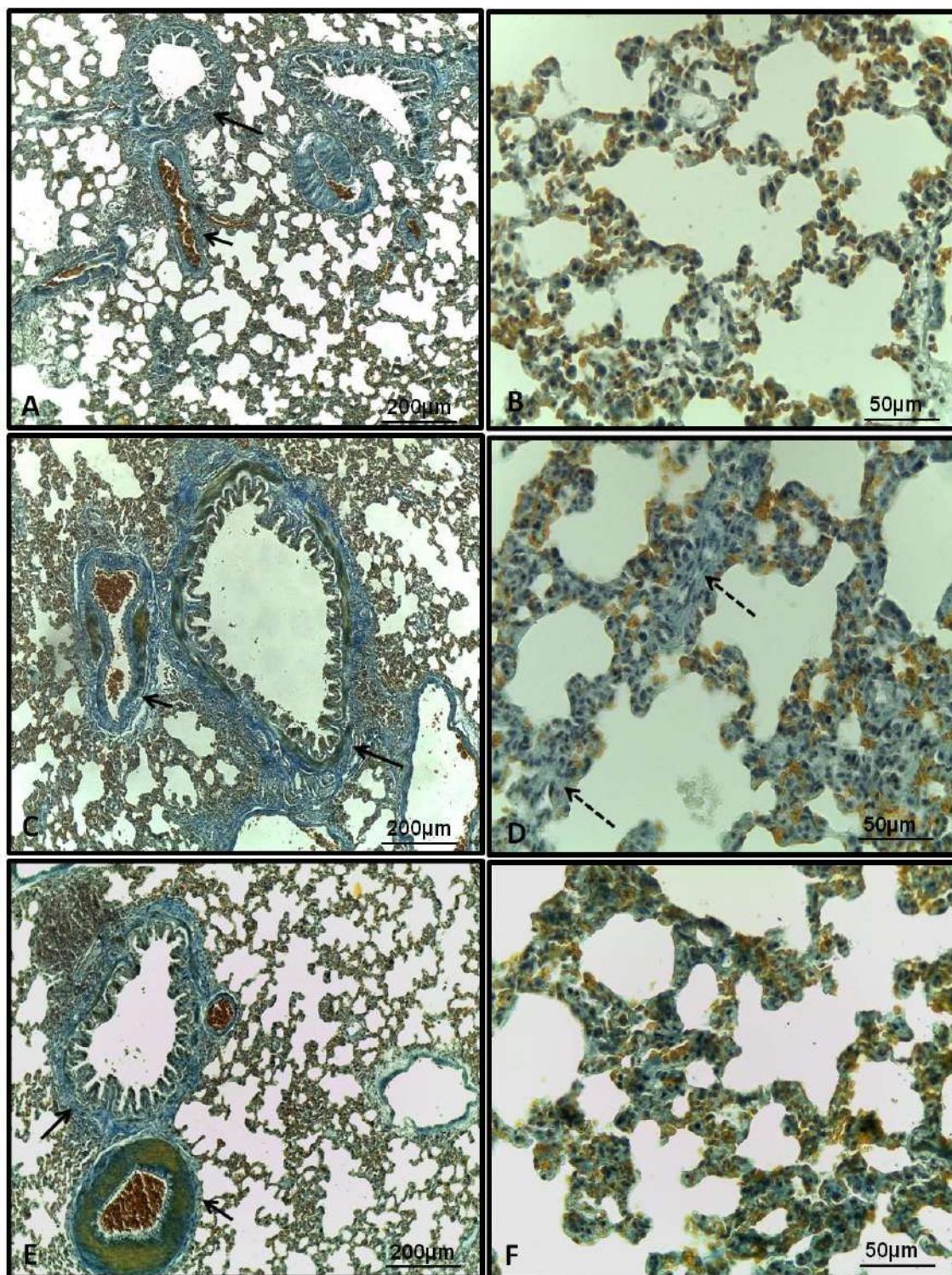
732



733

734 **Figura 1:** Fotomicrografia dos pulmões dos animais dos grupos experimentais. A-B grupo
 735 GC: bronquíolo (B) bem preservado e alvéolos com septos delgados (seta longa). C-D
 736 grupo GD: desorganização do bronquíolo (B) e espessamento da parede alveolar (seta
 737 curta). E-F grupo GDM: arquitetura pulmonar semelhante ao grupo GC. Coloração H.E.

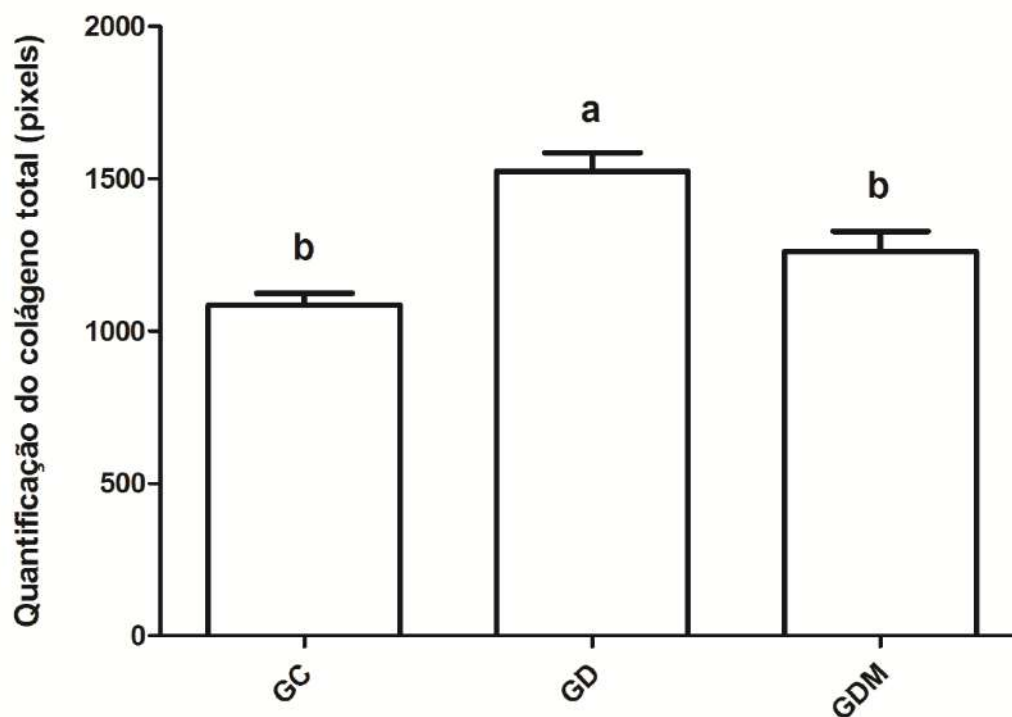
738



739

740 **Figura 2:** Fotomicrografia dos pulmões dos animais dos grupos experimentais. GC (A-B),
741 GD (C-D) e GDM (E-F). Verificar marcação na parede dos bronquíolos (seta longa) e dos
742 vasos sanguíneos (seta curta) em todos os grupos experimentais. No grupo GD (C-D)
743 verificou-se marcação mais acentuada no colágeno nos septos alveolares em relação aos
744 demais grupos. Coloração Tricrômico de Mallory.

745



746

747 **Figura 3:** Quantificação do colágeno total nos pulmões dos animais dos grupos
748 experimentais. O grupo GD apresentou o maior teor em relação aos demais grupos.
749 Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem significativamente entre si pelo teste
750 de múltiplas de Tukey e Kramer ($P < 0,05$).

751

752

753 6. DISCUSSÃO

754 O diabetes mellitus é uma enfermidade principalmente caracterizada pelo seu
755 constante estado de hiperglicemia que traz complicações a vários sistemas, órgãos e
756 tecidos (ROFFI; EBERLI, 2009). Entretanto, recentes estudos utilizando a melatonina
757 indicam a capacidade de tal hormônio em prevenir o estresse oxidativo através de
758 propriedades antioxidantes e, modular o sistema imunológico ao interagir com vias
759 inflamatórias, através da sua ação anti-inflamatória (TAO; SHI; ZHAO, 2015).

760 Neste estudo, o grupo de ratas diabéticas exibiu alterações histopatológicas
761 significativas, caracterizadas pela desorganização dos bronquíolos e espessamento das
762 paredes alveolares em comparação aos animais dos grupos GC e GDM. O espessamento
763 das vias respiratórias e o dano nas paredes dos alvéolos estão ligados aos efeitos
764 prejudiciais da glicotoxicidade, uma característica marcante do diabetes. (ALNAHDI;
765 JOHN; RAZA, 2019). Isso é decorrente da inflamação crônica devido à liberação de
766 citocinas pró-inflamatórias como, por exemplo, IL-6, IL-17 e TNF- α , desencadeando o
767 processo apoptótico levando a uma desorganização tecidual (KHATEEB; FUCHS;
768 KHAMAISI, 2019; TOMIC; SHAW; MAGLIANO, 2022). Todavia, no grupo GDM verificou-
769 se preservação da histoarquitetura pulmonar, o que pode estar associado às propriedades
770 anti-inflamatórias e antioxidantes da melatonina (ONK et al., 2018; HAYDEN, 2022; SHEN
771 et al., 2022b).

772 Com relação ao aumento de fibras colágenas no grupo GD, sabe-se que a glicose
773 excessiva também reage com proteínas e lipídios através da glicação, formando produtos
774 de glicação avançada (AGEs). Isso desencadeia vias de sinalização oxidativa como por
775 exemplo MAPK/ERK, TGF- β e JNK, afetando a estrutura e função das biomoléculas nos
776 pulmões (KHALID; PETROIANU; ADEM, 2022). Nessa situação pode haver o
777 estabelecimento de microangiopatia (ZHANG et al., 2021b), processo que afeta os
778 pequenos vasos sanguíneos, alterando sua estrutura comprometendo o fornecimento de
779 oxigênio aos tecidos pulmonares e possivelmente causando as alterações teciduais, como
780 a fibrose, caracterizada pelo excesso de síntese de colágeno (SCHLIENGER, 2013;
781 PRENTICE et al., 2021).

782 Ao discutir a atuação da melatonina contra o estresse oxidativo, por possuir a
783 capacidade de reagir em situações pró-oxidantes, tal hormônio pode ter interagido
784 diretamente neutralizando radicais hidroxila (OH^\cdot), uma espécie altamente prejudicial e
785 reativa para os tecidos em geral, além de se mostrar eficaz contra peróxido (ROO^\cdot),
786 superóxidos e até inibir a oxidação de determinadas substâncias nas mitocôndrias (GILAD

787 et al., 1997). Essa interação proporciona uma defesa essencial contra os danos oxidativos
788 que o radical hidroxila é capaz de infligir às biomoléculas em cada célula (POEGGELER
789 et al., 1993). Ou seja, a melatonina pode ter assumido um papel antioxidante não
790 enzimática sobre o estresse oxidativo, reduzindo a quantidade de síntese de colágeno
791 exacerbada pelos fibroblastos, mitigando danos ao tecido pulmonar já que o grupo GDM
792 apresentou semelhanças teciduais aos animais do grupo GC (ALNAHDI; JOHN; RAZA,
793 2019; DARENSKAYA; KOLESNIKOVA; KOLESNIKOV, 2021; MACHADO et al., 2022).

794

795

796

797

798

799

800

801

802

803

804

805

806

807

808

809

810

811

812

813

814

815

816

817

818

819

820

821
822
823
824
825
826
827
828
829
830
831
832
833
834
835
836
837
838
839
840
841
842
843
844
845
846
847
848
849
850
851
852
853
854

7. CONCLUSÃO

De tal forma, o presente trabalho demonstrou o potencial protetor da melatonina contra danos nos tecidos pulmonares em ratas prenhes induzidas ao diabetes mellitus. Como por exemplo, a desorganização dos bronquíolos, espessamento da parede alveolar e, grande presença de colágeno nos septos alveolares oriundos das complicações geradas por hiperglicemia crônica. Assim, concluímos que a melatonina pode ser uma alternativa na prevenção do desenvolvimento de complicações pulmonares induzidas pelo diabetes.

855

856

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

857

858 ABD-ALLAH, A. R. A. et al. Effect of melatonin on estrogen and progesterone receptors in
859 relation to uterine contractions in rats. **Pharmacological Research** , v . 47, pp. 349–354,
860 2003. DOI: 10.1016/s1043-6618(03)00014-8.

861 AKHTAR, Mohammed; TAHA, Noheir M.; NAUMAN, Awais; MUJEEB, Imaad B.; AL-
862 NABET, Ajayeb Dakhilalla M. H. Diabetic Kidney Disease: Past and Present. **Advances in**
863 **Anatomic Pathology**, [S. l.], v. 27, n. 2, p. 87–97, 2020. DOI:
864 10.1097/PAP.0000000000000257.

865 ALICIC, Radica Z.; COX, Emily J.; NEUMILLER, Joshua J.; TUTTLE, Katherine R. Incretin
866 drugs in diabetic kidney disease: biological mechanisms and clinical evidence. **Nature**
867 **Reviews. Nephrology**, [S. l.], v. 17, n. 4, p. 227–244, 2021. DOI: 10.1038/s41581-020-
868 00367-2.

869 ALNAHDI, Arwa; JOHN, Annie; RAZA, Haider. Augmentation of Glucotoxicity, Oxidative
870 Stress, Apoptosis and Mitochondrial Dysfunction in HepG2 Cells by Palmitic Acid.
871 **Nutrients**, [S. l.], v. 11, n. 9, p. 1979, 2019. DOI: 10.3390/nu11091979.

872 AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus.
873 **Diabetes Care**, [S. l.], v. 35 Suppl 1, n. Suppl 1, p. S64-71, 2012. DOI: 10.2337/dc12-
874 s064.

875 BHATTACHARYA, Sankha; PATEL, Krishna Kumar; DEHARI, Deepa; AGRAWAL, Ashish
876 Kumar; SINGH, Sanjay. Melatonin and its ubiquitous anticancer effects. **Molecular and**
877 **Cellular Biochemistry**, [S. l.], v. 462, n. 1–2, p. 133–155, 2019. DOI: 10.1007/s11010-
878 019-03617-5.

879 BOUTIN JA, KENNAWAY DJ, JOCKERS R. Melatonin: Facts, Extrapolations and Clinical
880 Trials. **Biomolecules**. 2023 Jun 5;13(6):943. doi: 10.3390/biom13060943. PMID:
881 37371523; PMCID: PMC10295901.

882 CHITIMUS, Diana Maria; POPESCU, Mihaela Roxana; VOICULESCU, Suzana Elena;
883 PANAITESCU, Anca Maria; PAVEL, Bogdan; ZAGREAN, Leon; ZAGREAN, Ana-Maria.
884 Melatonin's Impact on Antioxidative and Anti-Inflammatory Reprogramming in
885 Homeostasis and Disease. **Biomolecules**, [S. l.], v. 10, n. 9, p. 1211, 2020. DOI:
886 10.3390/biom10091211.

887 CHOUDHURY AA, DEVI RAJESWARI V. Gestational diabetes mellitus - A metabolic and
888 reproductive disorder. **Biomed Pharmacother**. 2021 Nov;143:112183. doi:
889 10.1016/j.biopha.2021.112183. Epub 2021 Sep 21. PMID: 34560536.

890 CLAUSTRAT, B.; LESTON, J. Melatonin: Physiological effects in humans.
891 **Neurochirurgie**, [S. l.], v. 61, n. 2, p. 77–84, 2015. DOI: 10.1016/j.neuchi.2015.03.002.

892 COBAS R, Rodacki M, GIACAGLIA L, Calliari L, NORONHA R, Valerio C, CUSTÓDIO J,
893 Santos R, ZAJDENYER L, Gabbay G, BERTOLUCI M. **Diagnóstico do diabetes e**

- 894 **rastreamento do diabetes tipo 2.** Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes
895 (2022). DOI: 10.29327/557753.2022-2, ISBN: 978-65-5941-622-6.
- 896 DALL'AGO, P.; SILVA, V. O. K.; DE ANGELIS, K. L. D.; IRIGOYEN, M. C.; FAZAN JR.,
897 R.; SALGADO, H. C. Reflex control of arterial pressure and heart rate in short-term
898 streptozotocin diabetic rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, [S.
899 *l.*], v. 35, p. 843–849, 2002. DOI: 10.1590/S0100-879X2002000700013.
- 900 DARENSKAYA, M. A.; KOLESNIKOVA, L. I.; KOLESNIKOV, S. I. Oxidative Stress:
901 Pathogenetic Role in Diabetes Mellitus and Its Complications and Therapeutic Approaches
902 to Correction. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, [S. *l.*], v. 171, n. 2, p.
903 179–189, 2021. DOI: 10.1007/s10517-021-05191-7.
- 904 FELDMAN, Eva L.; CALLAGHAN, Brian C.; POP-BUSUI, Rodica; ZOCHODNE, Douglas
905 W.; WRIGHT, Douglas E.; BENNETT, David L.; BRIL, Vera; RUSSELL, James W.;
906 VISWANATHAN, Vijay. Diabetic neuropathy. **Nature reviews. Disease primers**, [S. *l.*], v.
907 5, n. 1, p. 42, 2019. DOI: 10.1038/s41572-019-0097-9.
- 908 GENG, Tingting; ZHU, Kai; LU, Qi; WAN, Zhenzhen; CHEN, Xue; LIU, Liegang; PAN, An;
909 LIU, Gang. Healthy lifestyle behaviors, mediating biomarkers, and risk of microvascular
910 complications among individuals with type 2 diabetes: A cohort study. **PLOS Medicine**, [S.
911 *l.*], v. 20, n. 1, p. e1004135, 2023. DOI: 10.1371/journal.pmed.1004135.
- 912 GILAD, Eli; CUZZOCREA, Salvatore; ZINGARELLI, Basilia; SALZMAN, Andrew L.;
913 SZABÓ, Csaba. Melatonin is a scavenger of peroxynitrite. **Life Sciences**, [S. *l.*], v. 60, n.
914 10, p. PL169–PL174, 1997. DOI: 10.1016/S0024-3205(97)00008-8.
- 915 HAYDEN, Melvin R. The Mighty Mitochondria Are Unifying Organelles and Metabolic Hubs
916 in Multiple Organs of Obesity, Insulin Resistance, Metabolic Syndrome, and Type 2
917 Diabetes: An Observational Ultrastructure Study. **International Journal of Molecular
918 Sciences**, [S. *l.*], v. 23, n. 9, p. 4820, 2022. DOI: 10.3390/ijms23094820.
- 919 HSIA, Connie C. W.; HYDE, Dallas M.; WEIBEL, Ewald R. Lung Structure and the Intrinsic
920 Challenges of Gas Exchange. **Comprehensive Physiology**, [S. *l.*], v. 6, n. 2, p. 827–895,
921 2016. DOI: 10.1002/cphy.c150028.
- 922 HUBER, J. F. Practical correlative anatomy of the bronchial tree and lungs. **Journal of the
923 National Medical Association**, [S. *l.*], v. 41, n. 2, p. 49–60, 1949.
- 924 JACOBS, A. M. Diabetes mellitus. **Clinics in Podiatric Medicine and Surgery**, [S. *l.*], v.
925 10, n. 2, p. 231–248, 1993.
- 926 JENSEN, M. E.; BARRETT, H. L.; PEEK, M. J.; GIBSON, P. G.; MURPHY, V. E. Maternal
927 asthma and gestational diabetes mellitus: Exploration of potential associations. **Obstetric
928 Medicine**, [S. *l.*], v. 14, n. 1, p. 12–18, 2021. DOI: 10.1177/1753495X20926799.
- 929 JOHNS, Emma C.; DENISON, Fiona C.; NORMAN, Jane E.; REYNOLDS, Rebecca M.
930 Gestational Diabetes Mellitus: Mechanisms, Treatment, and Complications. **Trends in
931 endocrinology and metabolism: TEM**, [S. *l.*], v. 29, n. 11, p. 743–754, 2018. DOI:
932 10.1016/j.tem.2018.09.004.

- 933 JUAN, Juan; SUN, Yiyang; WEI, Yumei; WANG, Shuang; SONG, Geng; YAN, Jie; ZHOU,
934 Pengxiang; YANG, Huixia. Progression to type 2 diabetes mellitus after gestational
935 diabetes mellitus diagnosed by IADPSG criteria: Systematic review and meta-analysis.
936 **Frontiers in Endocrinology**, [S. l.], v. 13, p. 1012244, 2022. DOI:
937 10.3389/fendo.2022.1012244.
- 938 KARAMITRI, Angeliki; JOCKERS, Ralf. Melatonin in type 2 diabetes mellitus and obesity.
939 **Nature Reviews. Endocrinology**, [S. l.], v. 15, n. 2, p. 105–125, 2019. DOI:
940 10.1038/s41574-018-0130-1.
- 941 KATSIKI, Niki; STEIROPOULOS, Paschalis; PAPANAS, Nikolaos; MIKHAILIDIS, Dimitri P.
942 Diabetes Mellitus and Chronic Obstructive Pulmonary Disease: An Overview.
943 **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes: Official Journal, German
944 Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association**, [S. l.], v. 129, n. 10, p.
945 699–704, 2021. DOI: 10.1055/a-1038-3883.
- 946 KAUTZKY-WILLER, Alexandra; HARREITER, Jürgen; PACINI, Giovanni. Sex and Gender
947 Differences in Risk, Pathophysiology and Complications of Type 2 Diabetes Mellitus.
948 **Endocrine Reviews**, [S. l.], v. 37, n. 3, p. 278–316, 2016. DOI: 10.1210/er.2015-1137.
- 949 KC, Kamana; SHAKYA, Sumisti; ZHANG, Hua. Gestational diabetes mellitus and
950 macrosomia: a literature review. **Annals of Nutrition & Metabolism**, [S. l.], v. 66 Suppl 2,
951 p. 14–20, 2015. DOI: 10.1159/000371628.
- 952 KENNY, Helena C.; ABEL, E. Dale. Heart Failure in Type 2 Diabetes Mellitus. **Circulation
953 Research**, [S. l.], v. 124, n. 1, p. 121–141, 2019. DOI:
954 10.1161/CIRCRESAHA.118.311371.
- 955 KHALID, Mariyam; PETROIANU, Georg; ADEM, Abdu. Advanced Glycation End Products
956 and Diabetes Mellitus: Mechanisms and Perspectives. **Biomolecules**, [S. l.], v. 12, n. 4, p.
957 542, 2022. DOI: 10.3390/biom12040542.
- 958 KHATEEB, Jasmin; FUCHS, Eyal; KHAMAISI, Mogher. Diabetes and Lung Disease: An
959 Underestimated Relationship. **The Review of Diabetic Studies: RDS**, [S. l.], v. 15, p. 1–
960 15, 2019. DOI: 10.1900/RDS.2019.15.1.
- 961 LEE, Yuk-Tong. The mediastinum. **Gastrointestinal Endoscopy**, [S. l.], v. 69, n. 2 Suppl,
962 p. S81-83, 2009. DOI: 10.1016/j.gie.2008.12.007.
- 963 LINDNER, Harold H.; SAUNDERS, John B. De C. M. NEWER CONCEPTS OF
964 ANATOMY OF THE LUNGS—Advantages to Surgeons, Internists, Bronchoscopists and
965 Radiologists. **California Medicine**, [S. l.], v. 76, n. 2, p. 74–76, 1952.
- 966 LIU, Wei; YU, Muyu; XIE, Dong; WANG, Longqing; YE, Cheng; ZHU, Qi; LIU, Fang;
967 YANG, Lili. Melatonin-stimulated MSC-derived exosomes improve diabetic wound healing
968 through regulating macrophage M1 and M2 polarization by targeting the PTEN/AKT
969 pathway. **Stem Cell Research & Therapy**, [S. l.], v. 11, n. 1, p. 259, 2020. DOI:
970 10.1186/s13287-020-01756-x.
- 971 MACHADO, Liz Maria Queiroz; SERRA, Daniel Silveira; NEVES, Thayanne Gomes;
972 CAVALCANTE, Francisco Sales Ávila; CECCATTO, Vânia Marilande; LEAL-CARDOSO,
973 Jose Henrique; ZIN, Walter Araujo; MOREIRA-GOMES, Maria Diana. Pulmonary

- 974 impairment in type 2 diabetic rats and its improvement by exercise. **Acta Physiologica**
975 **(Oxford, England)**, [S. l.], v. 234, n. 1, p. e13708, 2022. DOI: 10.1111/apha.13708.
- 976 MAGGIO, Carol A.; PI-SUNYER, F. Xavier. Obesity and type 2 diabetes. **Endocrinology**
977 **and Metabolism Clinics of North America**, [S. l.], v. 32, n. 4, p. 805–822, viii, 2003. DOI:
978 10.1016/s0889-8529(03)00071-9.
- 979 MOUSTAFA, A. M. et al. Effect of bromocriptine on uterine contractility in near term
980 pregnant rats. **Pharmacological Research**, v. 39, no. 2, p. 89-95, 1999. DOI:
981 10.1006/phrs.1998.0399.
- 982 MUÑOZ-JURADO, Ana; ESCRIBANO, Begoña M.; CABALLERO-VILLARRASO, Javier;
983 GALVÁN, Alberto; AGÜERA, Eduardo; SANTAMARÍA, Abel; TÚNEZ, Isaac. Melatonin
984 and multiple sclerosis: antioxidant, anti-inflammatory and immunomodulator mechanism of
985 action. **Inflammopharmacology**, [S. l.], v. 30, n. 5, p. 1569–1596, 2022. DOI:
986 10.1007/s10787-022-01011-0.
- 987 OBERHOLZER, M.; OSTREICHER, M.; CHRISTEN, H.; BRUHLMANN, M. Methods in
988 quantitative image analysis. **Histochem Cell Biol.** v. 105, p. 333-355, 1996.
- 989 Lee, E. S.; Kim, J. H.; Im, S.; Lee, K. B.; Sohn. S.; Kang, W. H. **Application of**
990 **computerized image analysis in pigmentary skin diseases.** *Int J Dermatol.* v. 40, p. 45-
991 49, 2001.
- 992 O'HEARN, Meghan et al. Incident type 2 diabetes attributable to suboptimal diet in 184
993 countries. **Nature Medicine**, [S. l.], v. 29, n. 4, p. 982–995, 2023. DOI: 10.1038/s41591-
994 023-02278-8.
- 995 ONK, Didem; ONK, Oruç Alper; EROL, Hüseyin Serkan; ÖZKARACA, Mustafa; ÇOMAKLI,
996 Selim; AYAZOĞLU, Tülin Akarsu; KUYRUKLUYILDIZ, Ufuk; ÜNVER, Süheyla. Effect of
997 melatonin on antioxidant capacity, inflammation and apoptotic cell death in lung tissue of
998 diabetic rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, [S. l.], v. 33, n. 4, p. 375–385, 2018. DOI:
999 10.1590/s0102-865020180040000009.
- 1000 PAGET, G. E.; BARNE, J. M. Evaluation of results: quantitative application in different
1001 species. **Pharmacometrics** , vol. 1. p. 161. 9th ed. New York: Academic Press; 1994.
- 1002 PATEL, Roma; PARMAR, Nishant; PRAMANIK PALIT, Sayantani; RATHWA, Nirali;
1003 RAMACHANDRAN, A. V.; BEGUM, Rasheedunnisa. Diabetes mellitus and melatonin:
1004 Where are we? **Biochimie**, [S. l.], v. 202, p. 2–14, 2022. DOI:
1005 10.1016/j.biochi.2022.01.001.
- 1006 PEREDA, Paula; BOARATI, Vanessa; GUIDETTI, Bruna; DURAN, Ana Clara. Direct and
1007 Indirect Costs of Diabetes in Brazil in 2016. **Annals of Global Health**, [S. l.], v. 88, n. 1, p.
1008 14, [s.d.]. DOI: 10.5334/aogh.3000.
- 1009 PETERSMANN, Astrid; MÜLLER-WIELAND, Dirk; MÜLLER, Ulrich A.; LANDGRAF,
1010 Rüdiger; NAUCK, Matthias; FRECKMANN, Guido; HEINEMANN, Lutz; SCHLEICHER,
1011 Erwin. Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus. **Experimental and**
1012 **Clinical Endocrinology & Diabetes: Official Journal, German Society of**

- 1013 **Endocrinology [and] German Diabetes Association**, [S. I.], v. 127, n. S 01, p. S1–S7,
1014 2019. DOI: 10.1055/a-1018-9078.
- 1015 PETERSSON, Johan; GLENNY, Robb W. Gas exchange and ventilation-perfusion
1016 relationships in the lung. **The European Respiratory Journal**, [S. I.], v. 44, n. 4, p. 1023–
1017 1041, 2014. DOI: 10.1183/09031936.00037014.
- 1018 PIIPER, J. Respiratory gas exchange at lungs, gills and tissues: mechanisms and
1019 adjustments. **The Journal of Experimental Biology**, [S. I.], v. 100, p. 5–22, 1982. DOI:
1020 10.1242/jeb.100.1.5.
- 1021 PITOCCO, Dario; FUSO, Leonello; CONTE, Emanuele G.; ZACCARDI, Francesco;
1022 CONDOLUCI, Carola; SCAVONE, Giuseppe; INCALZI, Raffaele A.; GHIRLANDA,
1023 Giovanni. The diabetic lung--a new target organ? **The review of diabetic studies: RDS**,
1024 [S. I.], v. 9, n. 1, p. 23–35, 2012. DOI: 10.1900/RDS.2012.9.23.
- 1025 PÖEGGELER, B.; REITER, R. J.; TAN, D. X.; CHEN, L. D.; MANCHESTER, L. C.
1026 Melatonin, hydroxyl radical-mediated oxidative damage, and aging: a hypothesis. **Journal**
1027 **of Pineal Research**, [S. I.], v. 14, n. 4, p. 151–168, 1993. DOI: 10.1111/j.1600-
1028 079x.1993.tb00498.x.
- 1029 POZA, J. J.; PUJOL, M.; ORTEGA-ALBÁS, J. J.; ROMERO, O. Melatonin in sleep
1030 disorders. **Neurología (English Edition)**, [S. I.], v. 37, n. 7, p. 575–585, 2022. DOI:
1031 10.1016/j.nrleng.2018.08.004.
- 1032 PRENTICE, Bernadette J.; JAFFE, Adam; HAMEED, Shihab; VERGE, Charles F.;
1033 WATERS, Shafagh; WIDGER, John. Cystic fibrosis-related diabetes and lung disease: an
1034 update. **European Respiratory Review: An Official Journal of the European**
1035 **Respiratory Society**, [S. I.], v. 30, n. 159, p. 200293, 2021. DOI: 10.1183/16000617.0293-
1036 2020.
- 1037 RAGURAMAN R, SRIVASTAVA A, MUNSHI A, RAMESH R. Therapeutic approaches
1038 targeting molecular signaling pathways common to diabetes, lung diseases and cancer.
1039 **Adv Drug Deliv Rev.** 2021 Nov;178:113918. doi: 10.1016/j.addr.2021.113918. Epub 2021
1040 Aug 8. PMID: 34375681; PMCID: PMC8556346.
- 1041
- 1042 REITER, Russel J.; MAYO, Juan C.; TAN, Dun-Xian; SAINZ, Rosa M.; ALATORRE-
1043 JIMENEZ, Moises; QIN, Lilan. Melatonin as an antioxidant: under promises but over
1044 delivers. **Journal of Pineal Research**, [S. I.], v. 61, n. 3, p. 253–278, 2016. DOI:
1045 10.1111/jpi.12360.
- 1046 REITER, Russel J.; TAN, Dun Xian; ROSALES-CORRAL, Sergio; GALANO, Annia;
1047 ZHOU, Xin Jia; XU, Bing. Mitochondria: Central Organelles for Melatonin's Antioxidant and
1048 Anti-Aging Actions. **Molecules (Basel, Switzerland)**, [S. I.], v. 23, n. 2, p. 509, 2018. DOI:
1049 10.3390/molecules23020509.
- 1050 RITCHIE, Rebecca H.; ABEL, E. Dale. Basic Mechanisms of Diabetic Heart Disease.
1051 **Circulation Research**, [S. I.], v. 126, n. 11, p. 1501–1525, 2020. DOI:
1052 10.1161/CIRCRESAHA.120.315913.

- 1053 RODACKI M, Teles M, Gabbay M, Montenegro R, Bertoluci M. **Classificação do**
1054 **diabetes**. Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes (2022).
1055 DOI10.29327/557753.2022-1, ISBN: 978-65-5941-622-6.
- 1056 RODACKI M, TELES M, GABBAY M, MONTENEGRO R, BERTOLUCI M. Classificação
1057 do diabetes. **Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes** (2022). DOI:
1058 10.29327/557753.2022-1, ISBN: 978-65-5941-622-6.
- 1059 ROFFI, Marco; EBERLI, Franz R. Diabetes and the heart: a complex interaction. **Best**
1060 **Practice & Research. Clinical Endocrinology & Metabolism**, [S. l.], v. 23, n. 3, p. vii–
1061 viii, 2009. DOI: 10.1016/j.beem.2009.01.001.
- 1062 RUZE, Rexiati; LIU, Tiantong; ZOU, Xi; SONG, Jianlu; CHEN, Yuan; XU, Ruiyuan; YIN,
1063 Xinpeng; XU, Qiang. Obesity and type 2 diabetes mellitus: connections in epidemiology,
1064 pathogenesis, and treatments. **Frontiers in Endocrinology**, [S. l.], v. 14, p. 1161521,
1065 2023. DOI: 10.3389/fendo.2023.1161521.
- 1066 ROMANÍ-PÉREZ, Marina; OUTEIRIÑO-IGLESIAS, Verónica; MOYA, Christian M.;
1067 SANTISTEBAN, Pilar; GONZÁLEZ-MATÍAS, Lucas C.; VIGO, Eva; MALLO, Federico.
1068 Activation of the GLP-1 Receptor by Liraglutide Increases ACE2 Expression, Reversing
1069 Right Ventricle Hypertrophy, and Improving the Production of SP-A and SP-B in the Lungs
1070 of Type 1 Diabetes Rats. **Endocrinology**, [S. l.], v. 156, n. 10, p. 3559–3569, 2015. DOI:
1071 10.1210/en.2014-1685.
- 1072 SAEEDI, P.; PETERSOHN, I.; SALPEA, P.; MALANDA, B.; KARURANGA, S.; UNWIN, N.;
1073 COLAGIURI, S.; GUARIGUATA, L.; MOTALA, AA; OGURTSOYA, K.; e outros Estimativas
1074 de prevalência de diabetes global e regional para 2019 e projeções para 2030 e 2045:
1075 Resultados do Atlas de Diabetes da Federação Internacional de Diabetes, 9ª edição. **Res.**
1076 **de Diabetes Clin. Praticar**. 2019, 157, 107843.
- 1077 SCHLIENGER, Jean-Louis. [Type 2 diabetes complications]. **Presse Medicale (Paris,**
1078 **France: 1983)**, [S. l.], v. 42, n. 5, p. 839–848, 2013. DOI: 10.1016/j.lpm.2013.02.313.
- 1079 SCHÜTT, Katharina; FORST, Thomas; BIRKENFELD, Andreas L.; ZIRLIK, Andreas;
1080 MÜLLER-WIELAND, Dirk; MARX, Nikolaus. Diabetes Mellitus and the Heart.
1081 **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes: Official Journal, German**
1082 **Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association**, [S. l.], v. 130, n. S 01,
1083 p. S123–S126, 2022. DOI: 10.1055/a-1624-3593.
- 1084 SEN, Saikat; CHAKRABORTY, Raja. Treatment and Diagnosis of Diabetes Mellitus and
1085 Its Complication: Advanced Approaches. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, [S. l.], v.
1086 15, n. 14, p. 1132–1133, 2015. DOI: 10.2174/138955751514151006154616.
- 1087 SEVERINO, Paolo; D'AMATO, Andrea; NETTI, Lucrezia; PUCCI, Mariateresa; INFUSINO,
1088 Fabio; MAESTRINI, Viviana; MANCONE, Massimo; FEDELE, Francesco. Myocardial
1089 Ischemia and Diabetes Mellitus: Role of Oxidative Stress in the Connection between
1090 Cardiac Metabolism and Coronary Blood Flow. **Journal of Diabetes Research**, [S. l.], v.
1091 2019, p. 9489826, 2019. DOI: 10.1155/2019/9489826.

- 1092 SHEN, Shengnan; LIAO, Qiwen; WONG, Yin Kwan; CHEN, Xiao; YANG, Chuanbin; XU,
1093 Chengchao; SUN, Jichao; WANG, Jigang. The role of melatonin in the treatment of type 2
1094 diabetes mellitus and Alzheimer's disease. **International Journal of Biological**
1095 **Sciences**, [S. l.], v. 18, n. 3, p. 983–994, 2022. a. DOI: 10.7150/ijbs.66871.
- 1096 SHEN, Shengnan; LIAO, Qiwen; WONG, Yin Kwan; CHEN, Xiao; YANG, Chuanbin; XU,
1097 Chengchao; SUN, Jichao; WANG, Jigang. The role of melatonin in the treatment of type 2
1098 diabetes mellitus and Alzheimer's disease. **International Journal of Biological**
1099 **Sciences**, [S. l.], v. 18, n. 3, p. 983–994, 2022. b. DOI: 10.7150/ijbs.66871.
- 1100 SÜDY, Roberta; PETÁK, Ferenc; KISS, Liliána; BALOGH, Ádám L.; FODOR, Gergely H.;
1101 KORSÓS, Anita; SCHRANC, Álmos; BABIK, Barna. Obesity and diabetes: similar
1102 respiratory mechanical but different gas exchange defects. **American Journal of**
1103 **Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology**, [S. l.], v. 320, n. 3, p. L368–L376,
1104 2021. DOI: 10.1152/ajplung.00439.2020.
- 1105 SUN, Yaoxiang; TAO, Qing; WU, Xueqin; ZHANG, Ling; LIU, Qi; WANG, Lei. The Utility of
1106 Exosomes in Diagnosis and Therapy of Diabetes Mellitus and Associated Complications.
1107 **Frontiers in Endocrinology**, [S. l.], v. 12, p. 756581, 2021. DOI:
1108 10.3389/fendo.2021.756581.
- 1109 TAN, D. X.; MANCHESTER, L. C.; REITER, R. J.; PLUMMER, B. F.; HARDIES, L. J.;
1110 WEINTRAUB, S. T.; VIJAYALAXMI, Null; SHEPHERD, A. M. A novel melatonin
1111 metabolite, cyclic 3-hydroxymelatonin: a biomarker of in vivo hydroxyl radical generation.
1112 **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [S. l.], v. 253, n. 3, p. 614–
1113 620, 1998. DOI: 10.1006/bbrc.1998.9826.
- 1114 TAO, Ziqi; SHI, Aimin; ZHAO, Jing. Epidemiological Perspectives of Diabetes. **Cell**
1115 **Biochemistry and Biophysics**, [S. l.], v. 73, n. 1, p. 181–185, 2015. DOI:
1116 10.1007/s12013-015-0598-4.
- 1117 TOMIC, Dunya; SHAW, Jonathan E.; MAGLIANO, Dianna J. The burden and risks of
1118 emerging complications of diabetes mellitus. **Nature Reviews. Endocrinology**, [S. l.], v.
1119 18, n. 9, p. 525–539, 2022. DOI: 10.1038/s41574-022-00690-7.
- 1120 TYLER, W. S. Comparative subgross anatomy of lungs. Pleuras, interlobular septa, and
1121 distal airways. **The American Review of Respiratory Disease**, [S. l.], v. 128, n. 2 Pt 2, p.
1122 S32-36, 1983. DOI: 10.1164/arrd.1983.128.2P2.S32.
- 1123 URATA, Yoshishige; HONMA, Sato; GOTO, Shinji; TODOROKI, Sachiko; IIDA, Tetsuya;
1124 CHO, Sungsam; HONMA, Kenichi; KONDO, Takahito. Melatonin induces γ -
1125 glutamylcysteine synthetase mediated by activator protein-1 in human vascular endothelial
1126 cells. **Free Radical Biology and Medicine**, [S. l.], v. 27, n. 7, p. 838–847, 1999. DOI:
1127 10.1016/S0891-5849(99)00131-8.
- 1128 VASEY, Clayton; MCBRIDE, Jennifer; PENTA, Kayla. Circadian Rhythm Dysregulation
1129 and Restoration: The Role of Melatonin. **Nutrients**, [S. l.], v. 13, n. 10, p. 3480, 2021. DOI:
1130 10.3390/nu13103480.
- 1131 VIEIRA BRAGA, Felipe A. et al. A cellular census of human lungs identifies novel cell
1132 states in health and in asthma. **Nature Medicine**, [S. l.], v. 25, n. 7, p. 1153–1163, 2019.
1133 DOI: 10.1038/s41591-019-0468-5.

- 1134 WEIBEL, Ewald R. Lung morphometry: the link between structure and function. **Cell and**
1135 **Tissue Research**, [S. l.], v. 367, n. 3, p. 413–426, 2017. DOI: 10.1007/s00441-016-2541-
1136 4.
- 1137 WU, Tianshi David. Diabetes and Glycemic Dysfunction in Asthma. **The Journal of**
1138 **Allergy and Clinical Immunology: In Practice**, [S. l.], v. 8, n. 10, p. 3416–3417, 2020.
1139 DOI: 10.1016/j.jaip.2020.07.011.
- 1140 YAPISLAR, Hande; HACIOSMANOGLU, Ebru; SARIOGLU, Turkan; EKMEKCIOGLU,
1141 Cem. The melatonin MT2 receptor is involved in the anti-apoptotic effects of melatonin in
1142 rats with type 2 diabetes mellitus. **Tissue and Cell**, [S. l.], v. 76, p. 101763, 2022. DOI:
1143 10.1016/j.tice.2022.101763.
- 1144 YARIBEYGI, Habib; SATHYAPALAN, Thozhukat; ATKIN, Stephen L.; SAHEBKAR,
1145 Amirhossein. Molecular Mechanisms Linking Oxidative Stress and Diabetes Mellitus.
1146 **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [S. l.], v. 2020, p. 8609213, 2020. DOI:
1147 10.1155/2020/8609213.
- 1148 ZEHTABVAR, Omid; MASOUDIFARD, Majid; ROSTAMI, Amir; AKBAREIN, Hesameddin;
1149 SERESHKE, Amir Hosssein Alinezhad; KHANAMOOEIASHI, Mahdokht; BORGHEIE,
1150 Fakhra. CT anatomy of the lungs, bronchi and trachea in the Mature Guinea pig (*cavia*
1151 *porcellus*). **Veterinary Medicine and Science**, [S. l.], v. 9, n. 3, p. 1179–1193, 2023. DOI:
1152 10.1002/vms3.1131.
- 1153 ZHANG, Rui-Heng; CAI, Yao-Hua; SHU, Lin-Ping; YANG, Jinkui; QI, Lu; HAN, Min;
1154 ZHOU, Jianbo; SIMÓ, Rafael; LECUBE, Albert. Bidirectional relationship between diabetes
1155 and pulmonary function: a systematic review and meta-analysis. **Diabetes & Metabolism**,
1156 [S. l.], v. 47, n. 5, p. 101186, 2021. a. DOI: 10.1016/j.diabet.2020.08.003.
- 1157 ZHANG, Rui-Heng; ZHOU, Jian-Bo; CAI, Yao-Hua; SHU, Lin-Ping; SIMÓ, Rafael;
1158 LECUBE, Albert. Non-linear association between diabetes mellitus and pulmonary
1159 function: a population-based study. **Respiratory Research**, [S. l.], v. 21, n. 1, p. 292,
1160 2020. DOI: 10.1186/s12931-020-01538-2.
- 1161 ZHANG, Xuexue; WANG Miaoran; WANG Xujie; QU Hua; ZHANG Rui; GU Jiyu; WU
1162 Yufei, NI Tian, TANG Wei; LI Qiuyan. Relationship between periodontitis and
1163 microangiopathy in type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis. **Journal of Periodontal**
1164 **Research**, [S. l.], v. 56, n. 6, p. 1019–1027, 2021. b. DOI: 10.1111/jre.12916.
- 1165 ZISAPEL, Nava. New perspectives on the role of melatonin in human sleep, circadian
1166 rhythms and their regulation. **British Journal of Pharmacology**, [S. l.], v. 175, n. 16, p.
1167 3190–3199, 2018. DOI: 10.1111/bph.14116.