Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Molekulární biologie a biochemie organismů

Barbora Přiklopilová

Role melatoninu ve střevě savců a jeho interakce se střevním mikrobiomem

Role of melatonin in the mammalian intestine and its interaction with the gut microbiome

Bakalářská práce

Vedoucí práce/Školitel: prof. PharmDr. Alena Sumová, CSc., DSc.

Praha, 2024

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získaní jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze 19. 4. 2024

Podpis ……

Poděkování:
Tímto bych chtěla poděkovat prof. PharmDr. Aleně Sumové, DSc. za trpělivost a pečlivost, se kterou se mi věnovala a díky čemuž mohla tato práce vzniknout. Její odborný pohled na danou tématiku a ochota pomoci mi její psaní velmi ulehčilo. Dále bych chtěla poděkovat Matěji Alexanderovi za podporu, kterou mi během psaní práce poskytl, a za pevné nervy, bez kterých by se během jejího vzniku často neobešel.

Abstrakt

Melatonin je hormon, který u savců plní především roli v regulaci cirkadiánních rytmů. Nezávisle na epifýze je syntetizován i ve střevech, kde může interagovat se střevním mikrobiomem a podílet se tak na velkém množství různorodých funkcí. Cílem práce je popsat roli melatoninu a shrnout jeho funkce u jednotlivých organismů, přičemž je následně zaměřená na popis především u savců. Práce se zaměřuje na vysvětlení prokázaných účinků melatoninu v savčím střevě, jeho možných interakcí se střevním mikrobiomem a celkový vliv na homeostázu střevního prostředí.

Klíčová slova: melatonin, střevo, savci, střevní mikrobiom

Abstract

Melatonin is a hormone that primarily functions in regulating circadian rhythms in mammals. Independently of the pineal gland, it is also synthesized in the intestines, where it can interact with the gut microbiome and thus contribute to a wide variety of diverse functions. The aim of this paper is to describe the role of melatonin and summarize its functions across different organisms, with a particular focus on mammals. The work concentrates on explaining the proven effects of melatonin in the mammalian gut, its potential interactions with the gut microbiome, and the overall impact on the homeostasis of the intestinal environment.

Keywords: melatonin, intestine, mammals, gut microbiome

Obsah

1. Úvod 1

2. Melatonin jako konzervovaná molekula 2

2.1 Melatonin v prokaryotických organismech 2

2.2 Melatonin v eukaryotických organismech 3
2.2.1 Melatonin u hub 3
2.2.2 Melatonin v kvasinkách 3
2.2.3 Melatonin v rostlinách 3
2.2.4 Melatonin u bezobratlých 4
2.2.5 Melatonin u obratlovců 4

3. Syntéza melatoninu u savců 5

3.1 Melatonin v epifýze 5

3.2 Melatonin mimo epifýzu 7

4. Produkce melatoninu v savčím střevě 7

4.1 Receptory 8

4.2 Funkce melatoninu ve střevě 9
4.2.1 Motilita 9
4.2.2 Metabolismus vlivu melatoninu na regulaci hladin glukózy 10
4.2.3 Sekrece enzymů 10
4.2.4 Transport iontů a sloučenin ve střevě 11
4.2.5 Mukózní bariéra střeva 11
4.2.6 Ochrana 12
4.2.7 Antioxidační účinky 12
4.2.8 Apoptóza 13
4.2.9 Imunita 13

5. Interakce melatoninu a střevního mikrobiomu 13

5.1 Vliv na oxidativní stres a dysbiózu 14

5.2 Modulace imunitní odpovědi 16

5.3 Vliv cirkadiánního rytmu na střevní mikrobiom 17

5.4 Krátké mastné kyseliny a jejich vliv na melatonin 18

5.6 Hydrolýza žlučových solí 19

6. Závěr 21

7. Literatura 22

Seznam použitých zkratek

5-HT – 5-hydroxytryptofan

AADC – aromatická L-aminokyselinová dekarboxyláza

AANAT – aralkylamin N-acetyltransferáza

AFMK – N-acetyl-N-formyl-5-Methoxykynuramin

AMPK – AMP aktivovaná proteinkináza

ASMT – N-acetylserotonin-O-methyltransferáza

ATP – adenosintrifosfát

BSH – hydroláza žlučových solí

cAMP – cyklický adenosinmonofosfát

cGMP – cyklický guanosinmonofosfát

CRE – cAMP response element

CREB – cAMP response element-binding protein

DAG – 1,2-diacylglycerol

DCA – kyselina deoxycholová

DMPO – 5,5-dimethylprolin N-oxid

DSS – dextrát sulfátu sodného

ESPS – excitační postsynaptický potenciál

FXR – farnesoid-X receptor

GSH – glutathion

GSSG – glutathion disulfid

GSR – glutathion reduktáza

GPx – glutathion peroxidáza

HIOMT – hydroxyindol-O-methyltransferáza

HMG-CoA – 3-hydroxyl-3-methylglutaryl-koenzym A

IBD – idiopatické střevní choroby

IBS – syndrom dráždivého tračníku

ICER – inducibilní cAMP časný represor

IDO-1 – indolamin 2,3-dioxygenáza-1

IFN-γ – interferon γ

IκB – inhibitor kappa B

IL-1β,1,2,6,8,10,12,17 – interleukin 1β,1,2,6,8,10,12,17

IML – mediolaterální sloupec míchy

IP_3 – inositol-1,4,5-trifosfát

LCA – kyselina lithocholová

LKB1 – jaterní kináza B1

LPO – lipidový peroxid

LPS – lipopolysacharid

MHC II – hlavní histonkompatibilní komplex II

NAS – N-acetylserotonin

NEC – nekrotizující enterokolitida

NF-κB – jaderný transkripční faktor kappa B

Nrf2 – NFE2-related factor 2

OMV – vnější membránové vezikuly

OST-α,β – přenašeč organických látek α, β

PGE_2 – prostaglandin E_2

PIP2 – fosfatidylinositol-4,5-bifosfát

PKA – proteinkináza A

PKC – proteinkináza C

PLC – fosfolipáza C

PVN – paraventrikulární jádro

PTTH – prothoracikotropní hormon

QR2 – chinon reduktáza 2

RHT – retinohypotalamický trakt

ROR/RZR – jaderný retinoidní sirotčí receptor

ROS – reaktivní kyslíkové formy

SCFA – krátké mastné kyseliny

SCG – horní cervikální ganglium

SCN – suprachiasmatické jádro

SDS – dodecylsíran sodný

SIRT1 – Sirtuin 1

SNAT – serotonin N-acetyltransferáza

SOD – superoxid dismutáza

TLR – toll-like receptor

TNF-α – tumor necrosis factor α

1. Úvod

Melatonin je lipofilní molekula, která je obecně známá jako hormon spánku. Je produkován epifýzou především v noci a hraje důležitou roli v regulaci biologických rytmů, zejména cirkadiánních rytmů nejen u savců, ale například i u bezobratlých či ryb (Yamano et al., 2001; Masuda et al., 2003). Kromě epifýzy je melatonin nezávisle produkován i v gastrointestinálním traktu, kde může zastávat velké množství funkcí a ovlivňovat mnoho procesů.

Střevní mikrobiom přispívá ke správné homeostáze střeva a je složen ze zástupců prokaryot, eukaryot, archeí i virů. Jeho přítomnost zajišťuje správnou funkci střeva a jeho dysbióza může vést nejen k zažívacím poruchám, ale například až k depresím. Díky tomu, že je melatonin v gastrointestinálním traktu přítomen, a dokonce přímo syntetizován, se nabízí možnost jeho interakce se střevním mikrobiomem a jejich vzájemné ovlivňování.
Cílem této práce je popsání vztahu melatoninu a střeva a zaměření se na mechanismy, kterými melatonin ovlivňuje různé střevní funkce. Také popisuje účinky, které jeho podání vykazuje. V poslední části se zaměřuje na popsání vztahu melatoninu a střevního mikrobiomu, jejich vzájemnou provázanost a interakci a ovlivnění určitých funkcí střevního mikrobiomu.

2. Melatonin jako konzervovaná molekula

Původní role melatoninu byla jako antioxidant (Hardeland et al., 1995; Zhang et Zhang, 2014). Když došlo zhruba před 2,4 miliardami let k prvnímu velkému nahromadění kyslíku (O_2) v atmosféře (Lyons et al., 2014), byly jednoduché organismy, které byly zvyklé existovat v praatmosféře, kterou tvořily hlavně prvky jako vodík (H_2), oxid uhličitý (CO_2), oxid uhelnatý (CO), sirovodík (H_2S), methan (CH_4) a další sopečné plyny, nucené vyvinout nové systémy, díky kterým by v atmosféře s kyslíkem přežily. Této události se také říká Velká kyslíková katastrofa (Holland, 2002), a byl to počátek úplně nové éry vývoje organismů na Zemi.

V tomto období začal přechod mnoha organismů z anaerobní formy života na aerobní (Kurland & Andersson, 2000). Aerobní metabolismus ovšem produkuje reaktivní kyslíkové formy (ROS), které ničí bílkoviny, lipidy, sacharidy a především DNA, což vede k poškození a následné smrti buňky. Tento stav se nazývá oxidativní stres (Buonocore et al., 2010). Četné výzkumy dokazují, že melatonin hrál a stále hraje velkou roli v jejich odstraňování a buňky tak před oxidativním stresem chrání (Reiter et al., 2000; Manchester et al., 2015). Tato funkce ovšem není jediná, kterou melatonin zastává. Další, které získal během evoluce, jsou např. regulace spánku a bdění (Reiter, 1991), role v posílení imunity (Carrillo-Vico et al., 2005) nebo u některých živočichů v reprodukci, kde ji synchronizuje se změnami ve fotoperiodě (Darrow & Goldman, 1986).

2.1 Melatonin v prokaryotických organismech

V roce 1995 byla provedena studie, která prokázala přítomnost melatoninu ve fotosyntetické bakterii *Rhodospirillum rubrum* (Manchester et al., 1995), což poukazuje na to, že tento hormon se musel v organismech nacházet již před 2,5 – 3 miliardami let. Zde působil primárně jako antioxidant, což je také jeho nejprimitivnější a fylogeneticky nejkonzervovanější funkce (Reiter et al., 1993). Během evoluce byly tyto prokaryotické organismy začleněny do složitějších, eukaryotických, které tak získaly některé jejich funkce, v tomto případě syntézu melatoninu (Tan et al., 2009). Předpokládá se, že bakterie *Rhodospirillum rubrum* je předkem mitochondrie, protože provedená genomická fylogenetická analýza poukazuje na velké podobnosti mezi touto bakterií a mitochondrií, které jsou větší než u jiných bakterií (Esser et al., 2004). Podobné je to u chloroplastů, u kterých je obecně předpokládáno, že se vyvinuly z cyanobakterií, u kterých byla také prokázána syntéza melatoninu (Hattori et al., 1999).

U archeí syntéza melatoninu zatím objevena nebyla (Tan et al., 2014), ale studie z roku 2022 (Lee et al., 2022) prokázala přítomnost genu pro serotonin N-acetyltransferáza (SNAT) v archea, což je jeden ze dvou finálních enzymů v syntéze melatoninu.

2.2 Melatonin v eukaryotických organismech

Melatonin byl objeven u všech mnohobuněčných organismů – u hub (Muszyńska et al., 2011), kvasinek (Sprenger et al., 1999), rostlin (Dubbles et al., 1995), bezobratlých (Vivien-Roels et al., 1984) i u obratlovců (Lerner et al., 1958). Všechny tyto organismy obsahují mitochondrie nebo chloroplasty, které získaly pomocí endocytózy příslušných bakterií (Sagan, 1967). Tyto bakterie již byly schopné syntézy melatoninu, a protože se ukázalo, že tato funkce je pro nově vzniklé eukaryotické buňky prospěšná a zvyšuje jejich šance na přežití, vytvořil se mezi nimi symbiotický vztah, známý jako endosymbióza (Manchester et al., 2015).

2.2.1 Melatonin u hub

Role melatoninu u hub není zatím prozkoumána. Jeho existence byla potvrzena u některých makroskopických hub jako např. u *Volvaria volvacea*, kde jeho podání zvýšilo toleranci kadmia (Gao et al., 2020) a také u *Agaricus bisporus*, kde zpomalil proces stárnutí a hnědnutí klobouku během skladování (Shekari et al., 2021).

2.2.2 Melatonin v kvasinkách

V roce 2012 Rodriguez-Naranjo a spol. (Rodriguez-Naranjo et al., 2012) prokázali přítomnost melatoninu ve fermentovaných nápojích, jako je víno nebo pivo, který se zde nachází nejen jako molekula obsažená v rostlinných zdrojích, ale také jako výsledek metabolismu kvasinek. V kvasinkách působí především jako antioxidant (Vázquez et al., 2017) a také chrání proti UV záření snižováním mortality a zvyšováním růstu (Bisquert et al., 2018).

2.2.3 Melatonin v rostlinách

U rostlin je melatonin produkován především jako molekula, která chrání před biotickými i abiotickými stresory. Ty se projevují tak, že se zvýší množství ROS v buňce. Tyto ROS zřejmě mohou za zvýšenou produkci endogenního melatoninu, který sám funguje jako antioxidant a následně zvyšuje expresi genů, které buňku před těmito stresory chrání (Arnao et al., 2015). Melatonin zde také funguje jako regulátor růstu. V roce 2004 byla provedena studie (Hernández-Ruiz et al., 2004), která prokázala, že melatonin v malých koncentracích růst

podporuje, zatímco ve vysokých koncentracích ho inhibuje. Vzhledem k tomu, že rostliny obsahují jak mitochondrie, tak chloroplasty, nacházejí se v nich mnohem vyšší hladiny melatoninu než u živočichů (Tan et al., 2012).

2.2.4 Melatonin u bezobratlých

Melatonin by stejně jako u savců mohl sloužit jako molekula regulující určité fyziologické funkce i u hmyzu. Ten také využívá cyklus střídání dne a noci k adaptování se na různé enviromentální změny (Waddell et al., 1990). Již ve studii, která prokázala přítomnost melatoninu u *Locusta migratoria* (Viven-Roels et al., 1984), bylo navrženo, že i zde slouží jako molekula poskytující informaci o fotoperiodě. To bylo prokázáno v roce 2001, kdy orálně podávaný melatonin synchronizoval cirkadiánní lokomoční aktivitu u *Acheta domesticus* (Yamano et al., 2001), a v roce 2002, kdy melatonin stimuloval sekreci prothoracikotropního hormonu (PTTH) u *Periplaneta americana* (Richter et al., 2002).

2.2.5 Melatonin u obratlovců

Role melatoninu u obratlovců je obsáhlejší než u předešlých organismů. I zde působí především jako antioxidant a důležitou rolí je jeho funkce jako synchronizátoru cirkadiánních a sezónních rytmů v závislosti na světle či tmě (Reiter, 1991). V roce 1965 bylo zjištěno, že oscilace melatoninu během roku ovlivňuje reprodukční aktivitu křečků (Hoffman & Reiter, 1965) a v 80. letech se ukázalo, že je to způsobeno právě zvýšenou hladinou melatoninu v krvi během noci, kdy se její délka měnila v závislosti na délce fotoperiody (Carter & Goldman, 1983). Dále hraje významnou roli ve zvýšení imunity (Carrillo-Vico et al., 2006) a také působí pozitivně proti zánětům (Mayo et al., 2005). Jsou známy případy, kdy byl podáván hlodavcům, aby úspěšně potlačil vznik zánětu vyvolaného lipopolysacharidy (Bruno et al., 2005; Chen et al., 2006) a jedna klinická studie dokonce prokázala, že orální podání melatoninu novorozencům s novorozeneckou sepsí zmírnilo příznaky zánětu a zvýšilo tak jejich míru přežití (Gitto et al. 2001).

U ryb je produkce melatoninu řízena endogenními hodinami citlivých na světlo přítomných v e pifýze u všech kostnatých kromě lososovitých (Masuda et al., 2003; Iigo et al., 2007). Chybí jim totiž rytmicita v transkripci *Aanat* genu. Zvýšené hladiny transkriptů tohoto genu u nich ovšem přítomné jsou, což naznačuje možnost mutací v cirkadiánním systému. Výsledkem toho jsou

jejich endogenní hodiny nefunkční a předpokládá se, že světlo řídí produkci melatoninu přímo, pravděpodobně na posttranskripční úrovni (Coon et al., 1998).

3. Syntéza melatoninu u savců

U savců je melatonin syntetizován nejen v epifýze (Lerner et al., 1958), ale i v sítnici (Pang et al., 1977), kůži (Slominski et al., 2002), vaječnících (Itoh, 1999) a gastrointestinálním traktu (Bubenik, 1980). Vzniká výhradně z tryptofanu, což je esenciální aminokyselina, která musí být přijímaná potravou. Na syntéze melatoninu se podílejí celkem čtyři enzymy. Nejprve je tryptofan pomocí enzymu tryptofanhydroxyláza přeměněn na 5-hydroxytryptofan (5-HT). Ten je následně dekarboxylován aromatickou L-aminokyselinovou dekarboxylázou (AADC) na serotonin, který je poté pomocí aralkylamin N-acetyltransferázy (AANAT) acetylován na N-acetylserotonin (NAS). Konečný krok katalyzuje enzym N-acetylserotonin-O-methyltransferáza (ASMT), také známý jako hydroxyindol-O-methyltransferáza (HIOMT), který methyluje NAS na N-acetyl-5-methoxytryptamin neboli melatonin (Axelrod & Weissbach, 1961; Sugden et al., 1987a). Klíčovým enzymem v jeho syntéze je právě AANAT, což bylo popsáno v roce 1970, kdy provedená studie prokázala, že u myší byla zvýšením aktivity enzymu AANAT snížena hladina serotoninu, a naopak zvýšena hladina NAS. Vystavením myší světlu v noci byla aktivita AANAT výrazně snížena, což následně snížilo i hladinu NAS a melatoninu (Klein & Weller, 1970). Jiná studie ovšem tvrdí, že za významnější enzym v syntéze melatoninu by měl být považován enzym HIOMT, protože jen ten dokáže ovlivnit jeho konečnou hladinu. AANAT v noci produkuje velký nadbytek NAS, který ovšem HIOMT nedokáže všechen přeměnit na melatonin. Dle studie je tedy aktivace AANAT faktorem určujícím výslednou hladinu melatoninu pouze během počáteční fáze noci, protože není tolik produkován a tím pádem není produkován ani NAS, zatímco HIOMT je faktorem určujícím výslednou hladinu melatoninu během noci, kdy je produkce NAS nejvyšší (Liu & Borjigin, 2005).

3.1 Melatonin v epifýze

Pineální žláza neboli epifýza, která je hlavním místem produkce melatoninu, je součástí diencefalonu, konkrétně epithalamu, a nachází se za třetí komorou mozkovou. Buňky, které zde produkují melatonin, se nazývají pinealocyty (Zimmerman, 1975). Jeho produkce je u hlodavců a kopytníků řízena na transkripční úrovni skrze vazbu transkripčních faktorů na CRE element. Jako aktivátor působí fosforylovaný CREB a jako inhibitor ICER (Stehle et al., 1993; Korf et

al., 1996). U primátů včetně člověka je produkce melatoninu řízená na posttranskripční úrovni, kdy je AANAT v nepřítomnosti noradrenalinu degradován proteazomem, a tím pádem rychleji dokáže reagovat na změny (Gastel, 1998).

Informace o světle jsou zprostředkovávány zrakovým systémem prostřednictvím retinohypotalamického traktu (RHT). RHT přenáší tyto signály ze sítnice do suprachiasmatického jádra (SCN), které funguje jako oscilátor cirkadiánního rytmu, čehož je docíleno díky transkripci hodinových genů, mezi něž patří i *Clock*, *Bmal1 a Per1/2* (Gekakis, 1998). Světlo je hlavní synchronizátor cirkadiánních rytmů (Berson, 2002). Informace o světle jsou přenášeny také do dalších částí mozku, mezi něž patří i laterální a anteriorní hypotalamus (Costa et al., 1999). Signály jsou dále přenášeny ze SCN pomocí GABAergní projekce do paraventrikulárního jádra (PVN) (Hermes et al., 1996), ze kterého jde signál do pregangliových sympatických neuronů v mediolaterálním sloupci míchy (IML). Ty inervují sympatické neurony v horním cervikálním gangliu (SCG), které vysílají své axony do epifýzy (Pfaff & Volkow, 2016). Tyto axony obsahují noradrenalin, což je hlavní neurotransmiter podporující tvorbu melatoninu v epifýze (Axelrod et al., 1965). Přítomnost světla inhibuje produkci noradrenalinu (Nishino et al., 1976). V noci, kdy informace o světle chybí, dochází na synapsích s pinealocyty k aktivaci sympatických nervů a uvolnění noradrenalinu. Ten se na postsynaptické membráně pinealocytu váže na dva typy adrenergních receptorů (Vaněček et al., 1985). Aktivace α_1-adrenergních receptorů vede ke zvýšení intracelulární koncentrace Ca^{2+} iontů, což je způsobeno jejich vylitím z intracelulárních zásob a jejich následným influxem do pinealocytů (Sugden et al., 1987b). Přesná role Ca^{2+} iontů v regulaci syntézy melatoninu zatím není známa. Aktivace β1-adrenergních receptorů zvyšuje aktivitu adenylát cyklázy, která následně přeměňuje adenosintrifosfát (ATP) na cyklický adenosinmonofosfát (cAMP) (Weiss & Costa, 1968; Strada et al., 1972). Tím se aktivuje cAMP závislá proteinkináza A (PKA), která následně fosforyluje a aktivuje AANAT. Mnohé studie prokázaly, že *Aanat* gen je produkován nepřetržitě a hladina vznikající mRNA se v průběhu dne a noci o moc neliší (Coon et al., 1995; Klein et al., 1997). Z této mRNA se také konstantě tvoří již výše zmíněný protein AANAT, který je ovšem ihned po vzniku proteolyticky degradován (Klein et al., 1997; Schomerus et al., 2000). Pokud je ale na základě vysoké hladiny cAMP aktivní PKA, která AANAT fosforyluje na dvou místech – threoninu 31 a na serinu 205 – zajistí místo jeho degradace navázání k dimeru proteinu 14-3-3 (Ganguly et al., 2001). Role tohoto nově vzniklého komplexu je dvojí: jednak zvyšuje afinitu enzymu AANAT k serotoninu, což následně usnadňuje jeho přeměnu na N-acetylserotonin, a za druhé chrání AANAT před defosforylací tím, že není přístupný fosfatázám (Obsil et al., 2001;

Ganguly et al., 2001). Po syntéze je melatonin uvolňován z epifýzy do krve a mozkomíšní tekutiny (Ozaki & Lynch, 1976). Melatonin přímo ovlivňuje SCN tím, že inhibuje jeho neuronální aktivitu skrze MT1 receptory a skrze MT2 receptory může vyvolávat fázové posuny endogenních hodin (Liu et al., 1997). Také má vliv na transkripci hodinových genů. Orální podání melatoninu u myší zvýšilo mRNA hladinu *Rorβ*, který dále stimuluje expresi hodinového genu *Bmal1* (Agez et al., 2007), a jeho přidání do kultury buněk myších nadledvin během druhé poloviny subjektivní noci snížilo expresi hodinových genů *Per-2* a *Bmal-1* (Torres-Farfan et al., 2011).

3.2 Melatonin mimo epifýzu

Studie provedená v roce 2011 prokázala, že kromě retiny není syntéza extrapineálního melatoninu závislá na cirkadiánních rytmech tak jako melatonin pineální. Zároveň se během dne v extrapineálních tkáních nachází vyšší koncentrace melatoninu než v plazmě, který není uvolňován do krevního oběhu. Toto by nasvědčovalo tomu, že extrapineální melatonin je syntetizován lokálně a pravděpodobně chrání buňky před metabolity aerobního metabolismu (Venegas et al., 2011).

4. Produkce melatoninu v savčím střevě

V roce 1975 byla provedena studie, která zkoumala, zda je melatonin v intestinálním traktu produkován enterochromafinními buňkami (Raikhlin et al., 1975). Podkladem pro tuto studii bylo zjištění, že enterochomafinní buňky jsou také místem syntézy 5-HT, což je jeden z intermediátů při vzniku melatoninu (Erspamer & Asero, 1952). Zároveň bylo prokázáno, že melatonin je syntetizován napříč celým gastrointestinálním traktem, nejvíce v žaludku a duodenu v Lieberkühnových kryptách, a nejméně v ileu a jejunu. Směrem k tlustému střevu a rektu koncentrace melatoninu opět stoupala (Bubenik et al., 1977). To položilo základ otázce, zda je intestinální produkce melatoninu závislá na pineální produkci. To bylo vyvráceno zjištěním, že melatonin byl u myší syntetizován napříč gastrointestinálním traktem i po provedené pinealektomii (Bubenik et al., 1980), přičemž jeho distribuce navíc velmi úzce souvisela s koncentracemi 5-HT a hustotou enterochormafinních buněk (Bubenik & Dhanvantari, 1989). Nalezení enzymů AANAT a ASMT v gastrointestinálním traktu (Hong & Pang, 1995, Stefulj et al., 2001) pak umocnilo přesvědčení, že intestinální melatonin je syntetizován nezávisle na pineálním.

Přes 30 let panovalo přesvědčení, že gastrointestinální melatonin se podílí na cirkulující hladině melatoninu v plasmě (Huether et al., 1992b; Rice et al., 1995) a zároveň je jeho množství až 400krát větší než množství melatoninu pineálního (Huether et al., 1992a). V roce 2023 byla tato tvrzení zpochybněna (Kennaway, 2023). Podle Kennawaye jsou uvedené informace nepravdivé, jelikož autoři článků chybně interpretovali svá data a k měření hladin melatoninu používali nesprávné techniky. Například Huether et al. (Huether et al., 1992a) k výpočtům používali nesprávné hodnoty a nadhodnotili váhu duodena až 20krát, přičemž ve skutečnosti váží necelý 1 g (Miller, 1971), nebo Bubenik a Brown (Bubenik & Brown, 1997) pouze převzali již známé hodnoty poměru melatoninu v duodenu a epifýze místo toho, aby poměr vypočítali z vlastních výsledků. Kdyby to udělali, došli by k poměru 0,19:1 a ne 400:1 jako jejich kolegové v roce 1992 (Huether et al., 1992a). Dle Kennawaye gastrointestinální trakt není hlavním místem produkce extrapineálního melatoninu (Kennaway, 2023).

4.1 Receptory

Ve střevě se pro melatonin nachází několik receptorů. Mezi hlavní patří membránové receptory MT1 a MT2 (Sallinen et al. 2005). Oba receptory byly identifikovány pomocí ^{125}I-melatoninu (Lee & Pang, 1992) a patří do rodiny receptorů spřažených s G-proteiny (Dubocovich et al., 2000). MT1 receptory se vyskytují napříč všemi segmenty intestinálního traktu a korespondují s distribucí melatoninu (Sotak et al., 2006). Při jejich aktivaci inhibují funkci adenylát cyklázy (Morgan et al., 1989), která tvoří méně cAMP a tím pádem je menší aktivita PKA, která fosforyluje CREB. Zároveň je aktivována fosfolipáza C (PLC) (Godson & Reppert, 1997), která štěpí fosfatidylinositol-4,5-bifosfát (PIP2) na 1,2-diacylglycerol (DAG) a inositol-1,4,5-trifosfát (IP_3). Skrze aktivaci MT2 receptoru je také inhibována adenylát cykláza (Reppert et al., 1995) a aktivována fosfolipáza C, která rozštěpením PIP2 na DAG a IP_3 aktivuje proteinkinázu C (PKC) (Hunt et al., 2001). Navíc je jejich stimulací aktivována guanylát cykláza a tak zvýšena tvorba cyklických guanosinmonofosfátů (cGMP) (Vesely, 1981), což aktivací MT1 receptorů pozorováno nebylo. MT1 mRNA byla nalezena především v subepiteliální tkáni mukózy a bylo jí větší množství než MT2 mRNA, která byla nalezena především v epiteliální tkáni (Sotak et al., 2006).

Dalším membránovým receptorem pro melatonin je MT3. Původně byl popsaný v roce 1990 (Pickering & Niles, 1990) a později byl identifikovaný jako enzym chinon reduktáza 2 (QR2)

(Nosjean et al., 2000). Receptor je dnes považován za enzym díky jeho velmi rychlé formační a disociační kinetice ligandů (Molinari et al., 1996) a jako první byl v gastrointestinálním traktu identifikován ve střevech křečků (Paul et al., 1999).

Ve střevě jsou přítomné i jaderné receptory z ROR/RZR rodiny, se kterými melatonin interaguje díky jeho schopnosti jaderné lokalizace (Becker-André et al., 1994).

4.2 Funkce melatoninu ve střevě

Signalizace molekulou melatoninu ve střevě může být povahy parakrinní, autokrinní nebo přímého kontaktu mezi buňkami a podílí se na řadě vnitro- i mimobuněčných dějů.

4.2.1 Motilita

Melatonin je uplatňován ve střevní motilitě, kde může mít jak kontraktilní, tak inhibiční efekt na hladkou svalovinu. Názory na mechanismus, jakým melatonin působí na tonus hladké svaloviny střeva, se během času měnil. Nejprve bylo ukázáno, že kontraktilní funkce je zprostředkována především MT2 receptory, jelikož jsou funkčně spřažené s hydrolýzou PIP2, což je mechanismus, který by za tuto funkci mohl odpovídat (Lucchelli et al., 1997). Studie z ro ku 2013 ovšem tvrdí, že za kontraktilní efekt melatoninu jsou zodpovědné MT1 receptory exprimované buňkami hladké svaloviny. Skrze aktivaci fosfolipázy C a působení IP_3 dojde k vylití intracelulárních Ca^{2+} kationtů, které kontrakci zapříčiní (Ahmed et al., 2013). Melatonin zároveň inhibuje kontrakce intestinální hladké svaloviny vyvolané serotoninem, kdy snížením napětí hladké svaloviny je snížená i síla kontrakcí (Quastel & Rahamimoff, 1965). Největší snížení této síly přímo korelují s místy, kde byly nalezeny nejvyšší koncentrace melatoninu (Harlow & Weekley, 1986). Bylo zjištěno, že spíše než přímým ovlivněním kontraktilního aparátu, melatonin interaguje se serotoninovými receptory (Bubenik, 1986). Dříve se předpokládalo, že působí jako kompetitivní antagonista serotoninových stimulujících receptorů (Fioretti et al., 1972), které byly později určeny jako $5\text{-}HT_{3A}$ (Aikiyo et al., 2020), ale dnes je zastáván názor, že melatonin interaguje jako kompetitivní agonista se serotoninovými inhibitorními receptory $5\text{-}HT_1$ (Boeckxstaens et al., 2006), což podporuje i neúměrně vysoké množství melatoninu potřebné k potlačení účinků serotoninu na hladkou svalovinu (Bubenik, 1986). Mechanismů, kterými melatonin může relaxovat hladkou svalovinu je více. Dle jedné studie melatonin inhibuje cholinergní excitační postsynaptické potenciály (ESPS) díky přímé blokaci nikotinových receptorů (Barajas-López et al., 1996), dle další blokuje Ca^{2+} dependentní

K^+ kanály, což způsobí hyperpolarizaci buněčných membrán a tím relaxaci hladké svaloviny (Storr et al., 2000). Melatonin tedy ovlivňuje motilitu ve střevech přímo interakcí s MT1 či MT2 receptory nebo interakcí s receptory jiných neurotransmiterů či iontů.

4.2.2 Metabolismus vlivu melatoninu na regulaci hladin glukózy

Další funkcí melatoninu je regulace metabolismu glukózy. Díky jeho schopnosti skrze MT1 receptor snižovat množství cAMP, které je aktivátorem PKA, v pankreatu dochází k inhibici sekrece insulinu vyvolané glukózou (Picinato et al., 2002). Později bylo zjištěno, že k regulaci sekrece insulinu přispívá i signalizace skrze MT2 receptor, kdy melatonin pomocí něj snižuje množství cGMP a tím sekreci insulinu potlačuje (Stumpf et al., 2008) Myši, které neměly exprimované MT1 ani MT2 receptory, vykazovaly vyšší hladiny insulinu v plasmě a zároveň větší množství transkriptů pro receptory glukózy Glut1 a Glut2 v pankreatických β-buňkách (Bazwinsky-Wutschke et al., 2013). Melatonin zde skrze MT1 receptory stimuluje fosforylaci CREB (Bazwinsky-Wutschke et al., 2012), který se v buněčném jádře naváže na CRE element a tím aktivuje expresi *Glut1* genu (Kim et al., 2012). Na druhou stranu melatonin skrze MT2 receptor aktivuje fosfolipázu C a ta generuje IP_3 štěpením PIP2, které umožňují vylití Ca^{2+} kationtů z intracelulárních zásob, což je mechanismus podmiňující sekreci insulinu (Bach et al., 2005). Melatonin tedy v pankreatu inhibuje sekreci insulinu skrze snížení produkce cAMP či cGMP, zároveň jeho sekreci zvyšuje díky aktivaci PLC a produkci IP_3.

4.2.3 Sekrece enzymů

Bylo zjištěno, že melatonin může ovlivňovat sekreci hormonů spojených se zažíváním. Exogenním podáním melatoninu ve vodě, jehož koncentrace byla 4 μg/ml, byla snížena koncentrace leptinu u myší (Rasmussen et al., 1999), ale na druhou stranu bylo zjištěno, že melatonin zvyšuje hladinu leptinu u *Eliomys quercinus* (Ambid et al., 1998) a u *Mustela vison* (Mustonen et al., 2002), což naznačuje, že efekt melatoninu je specificky závislý na druhu savce. Za hormon s efektem opačným leptinu je považován ghrelin (Nakazato et al., 2001). Melatonin by mohl být zodpovědný za snižování chuti k jídlu (Piccinetti et al., 2010), což by podporovalo i zjištění, že jeho exogenní podání snížilo koncentraci ghrelinu v plasmě. Do myší byly vloženy implantáty, které obsahovaly 12 mg melatoninu, což způsobilo kontinuální uvolňování po dobu 24 hodin (Mustonen et al., 2001; Taheri et al., 2019). Jiná studie ale prokázala, že melatonin naopak hladinu ghrelinu zvyšuje, přičemž myším byl podáván melatonin po dobu 12 dnů v koncentracích 0,5 mg na 1 kg hmotnosti (Canpolat et al., 2006). To

by mohlo poukazovat na to, že účinky fyziologických a farmaceutických dávek melatoninu se liší.

4.2.4 Transport iontů a sloučenin ve střevě

Melatonin také ovlivňuje transport iontů a zároveň zvyšuje vylučované množství vody (Bubenik & Pang, 1994). V tlustém střevě působí jako molekula modulující aktivitu jiných neurotransmiterů, například prostaglandinů. Bylo prokázáno, že PGE_2 podporují tvorbu cAMP (Ding et al., 1997), a tím přímo zvyšují sekreci Cl^- aniontů (Diener et al., 1988). Melatonin v tomto případě nesnižuje přímo hladinu cAMP, ale zabraňuje jejich tvorbě interakcí s PGE_2 na úrovni kolonocytů (Mrnka et al., 2008). To potvrzuje i zvýšená hladina Cl^- aniontů při nižších koncentracích melatoninu (Chan et al., 1998).

Další funkcí melatoninu je jeho schopnost stimulovat produkci HCO_3^- v duodenu skrze MT2 receptory (Sjöblom & Flemström, 2003), kdy tato molekula neutralizuje kyselý obsah pocházející ze žaludku, čímž chrání mukózu (Flemström et al., 1986). Melatonin zároveň inhiboval absorpci sodíku v tlustém střevě myší, které v něm byly deficientní (Legris et al., 1982).

4.2.5 Mukózní bariéra střeva

Melatonin snižuje prostupnost mukózní bariéry pomocí strukturní změny těsných spojů ve střevě. Dle studie z roku 2013 se tak děje skrze nikotinové acetylcholinové receptory, což bylo navrženo poté, kdy byl u myší efekt melatoninu na snížení prostupnosti mukózní bariéry potlačen po podání neselektivních antagonistů nikotinových receptorů, hexamethonia a mekamylaminu (Sommansson et al., 2013). Výsledky této studie byly podpořeny zjištěním, že zmiňovaný efekt melatoninu byl potlačen díky podání jeho antagonisty luzindolu, který se váže na MT2 receptory (Dubocovich, 1988). Tuto funkci melatoninu potvrdilo i zjištění, že snížil prostupnost mukózní bariéry v jejunu po jejím vystavení dodecylsíranu sodnému (SDS) (Peters et al., 2021), což je látka, která zvyšuje propustnost membrány epiteliálních buněk (Anderberg & Artursson, 1993). Melatonin by mohl být na základě těchto zjištění potenciálním kandidátem na léčbu dysfunkce mukózní bariéry.

4.2.6 Ochrana

V gastrointestinálním traktu melatonin chrání před tvorbou lézí vyvolaných oxidativním stresem či žaludečními kyselinami. Jelikož je tento proces doprovázen zvýšeným množstvím ROS, je tento jev doprovázen zvýšením hladiny melatoninu jak v krevní plasmě, tak v krvi protékající žaludkem (Brzozowski et al., 1997). Zároveň jeho podání urychlilo hojení chronických žaludečních vředů. Melatonin zvýšil hladinu gastrinu v plazmě (Brzozowska et al., 2002), přičemž tento proces by mohl být výsledkem potlačení sekrece žaludečních kyselin, které za tvorbu žaludečních vředů mohou odpovídat (Brzozowski et al., 1997).

4.2.7 Antioxidační účinky

Melatonin působí jako antioxidant. Tato jeho funkce byla poprvé navržena v roce 1991 (Ianăş et al., 1991), ale přesvědčivé důkazy přinesla až studie v roce 1993 (Tan et al., 1993). V té byly *in vitro* generovány OH radikály působením UV světla na H_2O_2, které byly detekovány vazbou na 5,5-dimethylprolin N-oxid (DMPO). Melatonin snížil formaci DMPO-•OH a k jejich 50 % snížení ho bylo potřeba 21 μm, což je téměř 6x menší dávka, než byla potřebná u glutathionu (GSH), či 13x menší dávka, než byla potřebná u manitolu. Dle studie za tuto aktivitu může jak N-acetylová skupina tak pozice methylové skupiny na indolovém kruhu melatoninu (Tan et al., 1993). V roce 1994 bylo zjištěno, že indolový kruh poskytuje elektron elektrofilním sloučeninám, což jsou například již zmiňované OH radikály, přičemž zároveň probíhá jeho částečná oxidace. Tím vzniká indolyl kationtový radikál, který je za účasti superoxidového radikálu O_2^- přeměněn na N-acetyl-N-formyl-5-Methoxykynuramin (AFMK) (Poeggeler et al., 1994). Ten následně tělo opouští močí (Reiter et al., 2002). Role melatoninu jako antioxidantu je zřejmá při výskytu endotoxinu LPS v těle, který zvyšuje hladiny jak kyslíkových radikálů (Ghezzi et al., 1986) tak lipidových peroxidů (LPO) či dusíkatých radikálů (Carrillo-Vico et al., 2005). LPS díky tomu má vliv na snížení hladiny GSH, jehož oxidace vede ke tvorbě glutathion disulfidu (GSSG) (Stark et al., 1994). Zvýšený poměr GSSG vůči GSH je indikátorem oxidativního stresu v buňce. Melatonin hladinu GSSG snižuje a zároveň zvyšuje hladinu GSH, čímž upravuje poměr GSSG/GSH ve prospěch GSH a tím pádem snižuje oxidativní stres (Sewerynek et al., 1995). Melatonin zároveň stimuluje produkci a aktivitu enzymů, které se podílejí na odbourávání kyslíkových radikálů a snižování oxidativního stresu, například glutathion reduktázy (GSR), superoxid dismutázy (SOD) nebo glutathion peroxidázy (GPx) (Rodriguez-Naranjo et al., 2012), kdy je tato aktivita způsobena jeho interakcí s jadernými receptory z ROR/RZR rodiny (Becker-André et al., 1994).

4.2.8 Apoptóza

Melatonin zabraňuje destrukci mitochondrií, následované apoptózou, snižováním produkce mitochondriálních ROS. Brání tím depolarizaci membrány a zaplnění mitochondrie Ca^{2+} kationty, což by mohlo vést až k uvolnění cytochromu c (Jou et al., 2004). Anti-apoptické účinky melatoninu dokazuje i jeho schopnost snižovat hladinu dusíkatých radikálů (Reiter et al., 2002), které jsou ve velkém množství produkovány v septickém stavu charakterizovaným apoptózou buněk (Sharshar et al., 2003)

4.2.9 Imunita

Protizánětlivé účinky jsou další charakteristikou melatoninu. Myším, které byly intoxikovány LPS, byl podán melatonin ve dvou dávkách v koncentraci 10 mg na 1 kg tělesné hmotnosti, jednou 30 minut před vpravením LPS do těla, po druhé 60 min po vpravení LPS do těla. Snížení hladiny prozánětlivých cytokinů IL-1β, TNF-α, IFN-γ a IL-12 a zároveň zvýšení hladiny protizánětlivých cytokinů IL-10 bylo detekováno v peritoneální tekutině (Carrillo-Vico et al., 2005, Ahmed et al., 2022). Melatonin také zvyšuje expresi komplexu MHC II na povrchu makrofágů (Pioli et al., 1993), čímž by mohl podporovat produkci protilátek. Tyto a další efekty melatoninu například přispívají ke zmírnění projevů syndromu dráždivého tračníku (IBS), Crohnovy choroby či ulcerózní kolitidy (Song, 2005; Lu et al., 2005; Lardone et al., 2013).

5. Interakce melatoninu a střevního mikrobiomu

Mikroorganismy lze najít po celé délce gastrointestinálního traktu. Na jejich důležitost bylo poprvé upozorněno v roce 1964, kdy byl popsán jejich vliv na správnou morfologii a vývoj gastrointestinálního traktu (Dubos & Schaedle, 1964). Střevní mikrobiom je složen ze zástupců prokaryot, eukaryot, archeí a virů (Cregan & Hayward, 1953; Gill et al., 2006; Manrique et al., 2016), přičemž největší zastoupení mají bakteriální kmeny Firmicutes a Bacteroidetes (Arumugam et al., 2011), které společně s dalšími bakteriálními kmeny Proteobacteria a Actinobacteria tvoří až 93,5 % celkového počtu mikroorganismů v lidském těle (Hugon et al., 2015). Jak již bylo zmíněno, gastrointestinální trakt je zároveň i významným místem produkující melatonin (Bubenik et al., 1977). Ten tím pádem může interagovat se střevním mikrobiomem a ovlivňovat jeho složení a stejně tak mikroorganismy mohou mít vliv na syntézu a produkci melatoninu.

5.1 Vliv na oxidativní stres a dysbiózu

Oxidativní stres je charakterizován nadbytkem ROS (Buonocore et al., 2010). U myší, které mu byli vystavené, došlo ke změně složení střevního mikrobiomu, například ke zvýšení množství bakterií z kmene Bacteroidetes a snížení množství bakterií z kmenů Oscillospira nebo Clostridiales (Yardeni et al., 2019). Mnoho metabolických chorob spojených se zažívacím traktem souvisí právě s dysbiózou a změnou složení střevního mikrobiomu. Jedná se například o obezitu (Kasai et al., 2015; Xu et al., 2012), cukrovku I. i II. typu (De Goffau et al., 2014; Navab-Moghadam et al., 2017) nebo Crohnovu chorobu (Manichanh, 2006). Například zvýšený poměr mezi bakteriálními kmeny Firmicutes a Bacteroidetes je příčinou dysbiózy a následně i obezity. Toto bylo popsáno již v roce 2005, kdy byla provedena studie s myším kmenem C57BL/6 (Ley et al., 2005). Použita byla skupina myší s homozygotní mutací pro enzym leptin *(ob/ob)*, která vykazuje obézní fenotyp, a dvě skupiny myší *ob/+* a *+/+*, které obézní fenotyp nevykazují. Bylo prokázáno, že při porovnání se skupinami *ob/+* a *+/+* byl počet bakterií z kmenu Bacteroidetes u obézní skupiny myší *(ob/ob)* snížen až o 50 % na úkor bakterií z kmene Firmicutes. Zvýšený poměr Firmicutes/Bacteroidetes byl prokázán i u obézních lidí. Potvrdila ho například studie z Japonska, které se zúčastnilo 949 dobrovolníků. U štíhlých lidí bylo procentuální množství Firmicutes 37,0 ± 9,1 % a Bacteroidetes 44,0 ± 9,8 %, ale u obézních bylo procentuální množství Firmicutes 40,8 ± 15,0 % a Bacteroidetes 37,0 ± 14,0 % (Kasai et al., 2015). Stejných výsledků bylo docíleno i u studie 175 kazašských dětí (Xu et al., 2012) a 53 dětí z Belgie (Bervoets et al., 2013). Jiná studie z roku 2008, prováděná na 31 monozygotických dvojčatech a 23 dizygotických dvojčatech, prokázala pouze pokles bakterií z kmene Bacteroidetes, ale žádné zvýšení počtu bakterií z kmene Firmicutes (Turnbaugh et al., 2008). Tvrzení o zvýšeném poměru Firmicutes/Bacteroidetes ale rozporuje studie z Německa z roku 2010 provedená na 98 dospělých dobrovolnících obou pohlaví, která prokázala, že množství bakterií z kmene Bacteroidetes je u obézních lidí zvýšené, a naopak se jí nepodařilo prokázat žádnou korelaci mezi obezitou a zvýšeným množstvím bakterií z kmene Firmicutes (Schwiertz et al., 2010). Rozpory ve zjištěních mohou být způsobeny malým vzorkem testovaných dobrovolníků nebo jinými vnějšími vlivy, které ve studiích nebyly brány v uvážení (Vaiserman et al., 2020).

U pacientů s Crohnovou chorobou byla provedena studie (Yilmaz et al., 2019), která prokázala, že pacienti měli snížený počet bakterií produkující krátké mastné kyseliny (SCFA) na úkor aerobních bakterií produkujících ROS. Tito pacienti měli zvýšené množství určitých kmenů

bakterie *Escherichia coli*, které přilnuly ke střevní stěně. Tyto kmeny se nachází především na již diferencovaných střevních buňkách ilea, čemuž odpovídalo i jejich přednostní přilnutí k diferencovaným buňkám Caco-2 *in vitro* (Darfeuille-Michaud et al., 1998), a vyznačují se produkcí α-hemolysinu, což je prozánětlivý cytotoxin způsobující póry v cytoplazmatické membráně buňky následované její smrtí (Scheffer et al., 1985). Vlivem změněné kompozice střevního mikrobiomu může tedy dojít až k poškození střevní bariéry, což se vyznačuje zvýšenou produkcí imunoglobulinů G, které působí protizánětlivě (Zeng et al., 2016). Také bylo zjištěno, že ROS při dlouhodobém vystavení organismu oxidativnímu stresu snižují aktivitu antioxidačních enzymů, jako např. GSR nebo SOD, nebo je přímo poškozují (Gönenç et al., 2013).

Melatonin působí jako antioxidant (Tan et al., 1993) a jeho působení může probíhat buď přímo interakcí s ROS a jejich detoxifikací díky jeho schopnosti poskytovat elektron elektrofilním sloučeninám (Poeggeler et al., 1994) nebo nepřímo působením na jeho membránové či jaderné receptory (Becker-André et al., 1994; Barberino et al., 2017). Skrze interakce s receptory je stimulována produkce proteinů Sirtuin 1 (SIRT1) a následně AMP-aktivované proteinkinázy (AMPK) (Tajes et al., 2009; Rehman et al., 2019). SIRT1 aktivuje AMPK skrze deacetylaci jaterní kinázi B1 (LKB1), což je kináza působící právě na AMPK (Lan et al., 2008). Aktivitou AMPK je stimulována Nrf2 dráha (Iwasaki et al., 2013), přičemž Nrf2 je transkripční faktor regulující produkci genů enzymů, které se v buňce podílí na odbourávání ROS, např. GSR či GPx (Itoh et al., 1997; Rodriguez-Naranjo et al., 2012). Melatonin by pomocí tohoto mechanismu mohl sloužit jako prostředek ke snížení oxidativního stresu a znovuobnovení správného složení střevního mikrobiomu. Studie provedená u pacientů trpících výše zmíněnými chorobami potvrdily, že podáváním melatoninu bylo docíleno zmírnění příznaků a nastolení intestinální homeostázy. U pacientů s idiopatickými střevními záněty (IBD), mezi které patří například Crohnova choroba nebo ulcerózní kolitida, pro které je charakteristický snížené množství Firmicutes a zvýšené množství Bacteroidetes (Manichanh, 2006; Gophna et al., 2006), podání melatoninu zvýšilo poměr Firmicutes na úkor Bacteroidetes (Zhu et al., 2018). U myší trpících obezitou zase došlo podáváním melatoninu ke snížení hmotnosti a také upravení zvýšeného poměru Firmicutes/Bacteroidetes (Xu et al., 2017). Z tohoto vyplývá, že melatonin dokáže ovlivnit správné složení střevního mikrobiomu a jeho účinky u chorob spojených s gastrointestinálním traktem mají klinické využití.

5.2 Modulace imunitní odpovědi

Studie provedená v roce 2018 s bakterií *Lactobacillus acidophilus* zjistila, že u zkoumané skupiny myší, u kterých byla vyvolaná kolitida pomocí dextrát sulfátu sodného (DSS), došlo ke zvýšení počtu Treg buněk v epitelu tlustého střeva, konkrétně CD4, CD25 a Foxp3, a produkci protizánětlivých cytokinů IL-10 ve splenocytech, pokles naopak nastal u prozánětlivých cytokinů IL-17 (Park et al., 2018). Podobný efekt na expresi cytokinů u myší s kolitidou vyvolanou DSS mělo i podávání vnějších membránových vezikulů (OMV) izolovaných z bakterie *Escherichia coli*, u kterých bylo zaznamenáno zvýšení exprese IL-10 a snížení exprese IL-6, IL-17, TNF-α a IFN-γ (Fábrega et al., 2017). Ovšem střevní patogenní bakterie, včetně patogenních kmenů bakterie *Escherichia coli*, jsou schopné aktivovat i jaderný transkripční faktor kappa B (NF-κB) (Savkovic et al., 1997). NF-κB v těle spouští prozánětlivou odpověď a může být aktivován různými stimuly, mezi něž patří i prozánětlivé cytokiny IL-1 nebo TNF-α (Osborn et al., 1989), přičemž právě produkci IL-1 stimuluje i *Escherichia coli* (Brauner et al., 2001). Oba tyto cytokiny interagují s toll-like receptory (TLR) (Rakoff-Nahoum et al., 2004), které skrze adaptorový protein MYD88 aktivují fosforylační kaskádu vedoucí až k fosforylaci proteinu IκB, který inhibuje NF-κB (Kawai et al., 1999). IκB je následně rozložen proteazomem a NF-κB tak může být translokován do jádra, kde interaguje se svými receptory (Beg et al., 1993). Tam na transkripční úrovni stimuluje produkci mnoha genů, jejichž produkty se následně podílejí na imunitní odpovědi, například prozánětlivé cytokiny IL-2, IL-8 nebo IFN-γ (Pahl, 1999).

Melatonin inhibuje zánětlivou odpověď v těle vyvolanou NF-κB několika způsoby. *In vitro*, jeho podání u makrofágu stimulovaných LPS inhibovalo transkripci genu *MyD88*, který spouští dráhu vedoucí až k aktivaci NF-κB (Xia et al., 2012). Podání melatoninu mělo pozitivní dopady i ve studiích prováděných *in vivo*. U myší, u kterých byla vyvolána jaterní ischemie, bylo podáno 10 mg melatoninu na 1 kg hmotnosti 15 minut před jejím vyvoláním a stejná dávka těsně před reperfuzí. Podání melatoninu snížilo expresi TLR4 a jimi vyvolané prozánětlivé odpovědi (Kang et al., 2011). Zároveň podávání 10 mg melatoninu na 1 kg hmotnosti u králíků trpících aterosklerózou potlačilo expresi TLR4 a proteinu MYD88, a naopak zvýšilo expresi Iκ B, který inhibuje transport NF-κB do jádra (Hu et al., 2013). Díky těmto mechanismům melatonin potlačuje nadprodukci prozánětlivých cytokinů a celkově snižuje zánětlivou odpověď v těle vyvolanou patogenními bakteriemi.

5.3 Vliv cirkadiánního rytmu na střevní mikrobiom

Bylo prokázáno, že cirkadiánní rytmy a střevní mikrobiom jsou propojené. Například v jedné studii byly myši vystavené časovému posunu shodnému s časovým posunem mezi dvěma časovými pásmy, které mezi sebou mají rozdíl 8 hodin. Vzorky jejich střevního mikrobiomu prokázaly zvýšené množství bakterií z kmene Firmicutes stejně tak, jako vzorek střevního mikrobiomu lidí, kteří tento časový posun podstoupili (Thaiss et al., 2014). K podobnému výsledku ve změně složení střevního mikrobiomu dospěly i jiné studie (Zarrinpar et al., 2014; Liang et al., 2015). Liang et al. zároveň prokázali pozměněné složení střevního mikrobiomu u myší s nefunkčním genem *Bmal1*. Na úrovni kmene Proteobacteria došlo k velkému zvýšení. U kmenů Bacteroidetes a Firmicutes v celkovém množství sice nedošlo k výrazným změnám, ale jejich jednotlivé taxony vykazovaly rozdílná množství u kontrolní skupiny myší a u skupiny myší s delecí v genu *Bmal1*. (Liang et al., 2015). Vliv hodinových genů na složení střevního mikrobiomu potvrdila i další studie, která zjistila, že myši s delecí pro geny *Per1* a *Per2* ztratily rytmicitu v denní oscilaci množství bakterie *Ruminococcus gnavus* (Thaiss et al., 2016).

Podávání 10 mg melatoninu na 1 kg hmotnosti po dobu 10 dní dokázalo zvýšit snížené množství prospěšných bakterií *Lactobacillus murinus* a *Akkermansia muciniphila* (Shang et al., 2017) a snížit zvýšené množství bakterií *Bacteroides massiliensis* a rodu *Enterobacter asburiae*, které způsobují zánět (Boureau et al., 1993; Brauner et al., 2001), u myší trpících spánkovou deprivací (Park et al., 2020). Zároveň podávání 20 mg melatoninu na 1 kg hmotnosti po dobu 3 dnů u myší se spánkovou deprivací dokázalo obnovit poškozenou střevní bariéru a snížit její zvýšenou prostupnost (Gao et al., 2019). Studie z roku 2018 prokázala zvýšené množství bakterií *Ruminococcus torques* u myší trpících spánkovou deprivací (Deaver et al., 2018), což je bakterie asociovaná se zvýšením prostupnosti střevní bariéry (Hoskins et al., 1985). Dysbióza střevního mikrobiomu tedy může ovlivnit narušení integrity střevní bariéry (Kassinen et al., 2007; Lyra et al., 2009) a může také přímo ovlivňovat syntézu melatoninu ve střevech. Gao et al. prokázali snížení hladiny melatoninu v plasmě z 32.33 pg/ml u kontrolní skupiny myší až na 23 pg/ml u skupiny myší spánkově deprimované (Gao et al., 2019). Tato studie zároveň prokázala, že myši trpící spánkovou deprivací měli snížené množství pohárkových buněk, které vylučují mucin chránící střevní stěnu (Bierring, 1962), a sníženou expresi proteinů okludin, klaudin-1 a ZO-1, které tvoří těsné membránové spoje a přispívají tak ke správné integritě střevní stěny (Farquhar & Palade, 1963). Přítomnost bakterie *Helicobacter pilori* zase snížila expresi ASMT a AANAT enzymů, což vedlo ke snížení hladiny melatoninu v gastrointestinálním traktu

(Chojnacki et al., 2013). Cirkadiánní rytmy tedy ovlivňují složení střevního mikrobiomu a ten následně interaguje s melatoninem a ovlivňuje jeho produkci.

5.4 Krátké mastné kyseliny a jejich vliv na melatonin

Střevní anaerobní bakterie jsou hlavními producenty SCFA (Høverstad & Midtvedt, 1986), mezi něž patří i propionát, butyrát a acetát. Ty jsou generovány metabolismem těchto bakterií, především anaerobní glykolýzou (Macfarlane & Macfarlane, 2003), pentózofosfátovým cyklem (Schell et al., 2002) nebo Wood-Ljungdahlovým cyklem, což je největší a nejvýznamnější cesta produkce acetátu (Miller & Wollin, 1996).

Butyrát v tlustém střevě vykazuje anti-proliferační účinky a dokáže vyvolat diferenciaci nebo apoptózu v nediferencovaných epiteliálních buňkách HT-29 (Comalada et al., 2006). Také je kolonocyty využíván jako zdroj energie (Donohoe et al., 2011). Butyrát zároveň podporuje obnovu epitelu v tlustém střevě a snižuje zánět způsobený kolitidou (Butzner et al., 1996). Je totiž vstřebáván pomocí výměny za HCO_3, což je silná báze (Binder & Mehta, 1989). Tím je v buňce sníženo pH, které je poté zvyšováno pumpováním H^+ ven z buňky výměnou za Na^+, který je následně pomocí Na^+/K^+ ATPázy z buňky odstraňován (Rowe et al., 1994). Butyrát tím pádem má roli i v regulaci vstřebávání iontů a vody.

Propionát se podílí na glukoneogenezi a ketogenezi (Leng et al., 1967). V játrech stimuluje glykolýzu (Anderson & Bridges, 1984), což by mohlo být následkem poklesu citrátu při jeho metabolismu (Blair et al., 1973). Propionát také snižuje hladinu cholesterolu (Chen et al., 1984). V této studii myši, jejichž potrava obsahovala 0,5 % propionátu sodného, měli sníženou hladinu cholesterolu jak v játrech, tak v plazmě. Mohlo by to být následkem schopnosti propionátu snižovat aktivitu 3-hydroxyl-3-methylglutaryl-koenzymu A (HMG-CoA) (Ide et al., 1978), což je klíčový enzym v syntéze cholesterolu (Rodwell et al., 1976). Zvýšená hladina propionátu v t ěle ovšem může mít i nežádoucí účinky. Například může při nízkém pH v buňce způsobovat intracelulární acidifikaci, kdy se dostává do buňky v protonované nebo nenabité formě. V buňce dojde k deprotonaci propionátu a acidifikaci jejího vnitřního prostředí (Karuri et al., 1993). Macfabe a kolegové (Macfabe et al., 2007) zjistili, že pokud se propionát vyskytoval v mozku myší, docházelo u nich k projevům hyperaktivity, abnormálních a repetitivních motorických pohybů a byly přítomny i záchvatovité epizody, což jsou projevy poruchy autistického spektra. Studie provedená v roce 2010 prokázala, že množství bakterií z kmene

Bacteroidetes, který produkuje velké množství propionátu, bylo vyšší u dětí trpících autismem (Finegold et al., 2010). Propionát je tedy ve fyziologických hladinách důležitý pro správný metabolismus, ale ve vyšších hladinách může v lidském těle působit komplikace.

Acetát je důležitým prekurzorem v lipogenezi (Hanson & Ballard, 1967) a zároveň snižuje koncentraci volných mastných kyselin v plazmě (Crouse et al., 1968). Je absorbován do periferních tkání, kde slouží jako prekurzor v syntéze cholesterolu (Bloch, 1965). Také může být použit jako prekurzor k syntéze butyrátu pomocí butyryl-CoA/acetát-CoA transferázy (Diez-Gonzalez et al., 1999). Jeho koncentrace v plazmě je násobně vyšší než koncentrace propionátu nebo butyrátu (Pouteau et al., 2001). Jeho absorpce do periferního krevního oběhu je značná, proto acetát bývá používán pro monitorování střevního prostředí (Pomare et al., 1985).

V *ex vivo* modelu myšího střeva bylo prokázáno, že podání SCFA zvýšilo produkci 5-HT enterochromafinními buňkami (Fukumoto et al., 2003). Postupně bylo zjištěno, že propionát u myší stimuloval expresi enzymu Tryptofan 5-hydroxylázy 1, který je limitujícím ve tvorbě 5-HT (Nankova et al., 2014), a Reigstad et al. v myším modelu s lidskými enterochromafinními buňkami prokázali, že acetát a butyrát jeho produkci stimulovali také (Reigstad et al., 2015). 5-HT poté může být pomocí enzymů AANAT a ASMT přeměněn na melatonin (Axelrod & Weissbach, 1961; Sugden et al., 1987a). Tryptofan, který je prekurzorem 5-HT a následně až melatoninu, může být pomocí oxidace přeměněn až na N-formylkynurenin, což je látka působící v těle prozánětlivě (Nelp et al., 2019). Tuto dráhu podstoupí naprostá většina tryptofanu (Badaway, 2017), přičemž klíčovým enzymem regulující tuto dráhu je Indolamin 2,3-dioxygenáza-1 (IDO-1) (Ball et al., 2007), Jeho zvýšené množství ve střevech je spojováno s několika zánětlivými stavy, například Crohovou chorobou nebo ulceratózní kolitidou (Wolf et al., 2004; Ferdinande et al., 2008). Studie provedená *in vitro* prokázala, že butyrát snížil expresi IDO-1 v enterochromafinních buňkách, čímž by mohl napomáhat udržovat homeostázu v těle (Martin-Gallausiaux et al., 2018). SCFA tedy mohou ovlivňovat hladinu melatoninu stimulací enzymů potřebných k jeho syntéze.

5.6 Hydrolýza žlučových solí

Mnoho zástupců bakterií střevního mikrobiomu disponuje hydrolázou žlučových solí (BSH) (Bateup et al., 1995; Coleman & Hudson, 1995; Grill et al., 1995), což je enzym zodpovědný za dekonjugaci žlučových kyselin (Hepner et al., 1972). Tím vznikají například kyselina

deoxycholová (DCA) nebo kyselina lithocholová (LCA) (Hamilton et al., 2007). Konjugované žlučové kyseliny vznikají v játrech, kde jsou nejčastěji konjugovány s taurinem nebo glycinem v závislosti na druhu savce (Alvaro et al., 1986). Z jater jdou skrze žlučovody až do duodena, kde se podílí na absorpci lipidů (Center, 1993). Zhruba 95 % konjugovaných žlučových kyselin je reabsorbováno v ileu a navráceno zpět do jater (Schiff et al., 1972). U zbylých 5 % je amidová vazba pomocí BSH hydrolyzována, čímž je zabráněno jejich další reabsorpci enterocyty a tím pádem jsou vylučovány z těla (Garbutt et al., 1970). Aktivita BSH může nepřímo ovlivňovat snížení hladiny cholesterolu, kdy díky jejímu podílu na dekonjugaci žlučových kyselin je cholesterol využíván pro tvorbu nových žlučových kyselin, které nahradí ty vyloučené (Reynier et al., 1981). BSH také může mít detoxifikační roli. Preferenčně se podílí na hydrolýze glyko-konjugovaných žlučových kyselin (Christiaens et al., 1992; Tanaka et al., 2000), které jsou při nízkém pH pro buňky velmi toxické (De Smet et al., 1995).

Nekrotizující enterokolitida (NEC) je nemoc gastrointestinálního traktu postihující především nedonošené novorozence, která se vyznačuje akutním zánětem střeva (Duchon et al., 2021). Nejvíce postižené bývá distální ileum a proximální část tlustého střeva, což jsou místa s největší reabsorbcí žlučových kyselin (Craven & DeRubertis, 1988). Zvýšené hladiny DCA i LCA jsou považované za příčinu NEC (Halpern & Dvořák, 2008; Knapp et al., 2020). NEC se také vyznačuje sníženým množstvím přenašečů organických látek (OST-α a OST-β), jejichž produkce je stimulována aktivací receptoru Farnesoid-X (FXR) (Lee et al., 2005). Aktivací FXR je zároveň snížena buněčná proliferace (Duan & Fang, 2014). OST-α a OST-β přenášejí žlučové kyseliny přes intestinální stěnu zpět do portálního oběhu (Ballatori et al., 2005). Podáním melatoninu bylo docíleno snížení vylučovaných DCA a LCA a zvýšení exprese OST-α, čehož mohlo být docíleno jeho vlivem na snížení acetylace FXR skrze zvýšení produkce SIRT1 (Lai et al., 2024). Melatonin zároveň dokáže pozměnit poměr prospěšných a neprospěšných bakterií pro lidské tělo (Xu et al., 2017; Zhu et al., 2018), což by mohl být další faktor zmírňující zvýšené hladiny DCA a LCA.

6. Závěr

Schopnost enterochromafinních buněk syntetizovat melatonin přímo ve střevě nezávisle na epifýze přiměla spoustu výzkumů zaměřit se na jeho účinky právě ve střevě. Na jejich základě byla zjištěna role melatoninu například v motilitě, imunitě a ochraně střevní bariéry. Také byla prokázána řada pozitivních účinků podávání melatoninu pacientům s poškozenou střevní homeostázou. Za předpokladu provázanosti jednotlivých střevních funkcí se vědci začali zajímat o roli melatoninu u pacientů s dysbiózou střevního mikrobiomu, jelikož mnoho zdánlivě nevyléčitelných chorob, mezi něž patří například diabetes II. typu nebo Crohnova choroba, jsou s tímto problémem spojené.

Podařilo se prokázat, že melatonin má vliv na správné složení střevního mikrobiomu a to i proto, že nesprávné složení střevního mikrobiomu často souvisí s poruchami cirkadiánních rytmů. Podávání melatoninu dokázalo obnovit správné složení střevního mikrobiomu a také zmírnit příznaky chorob souvisejících právě s dysbiózou. Zároveň se začala zkoumat podstata těchto účinků melatoninu, přičemž bylo zjištěno, že i střevní mikrobiom dokáže ovlivňovat produkci melatoninu ve střevě.

Ze závěrů jednotlivých studií jednoznačně vyplývá, že melatonin a střevní mikrobiom se vzájemně ovlivňují, a těchto poznatků je využíváno v klinické léčbě některých chorob souvisejících s dysbiózou střevího mikrobiomu. Další výzkumy jsou potřeba pro pochopení procesů, které se odehrávají na molekulární úrovni, jelikož tato oblast zatím není dostatečně popsána.

7. Literatura

Agez, L., Laurent, V., Pévet, P., Masson-Pévet, M., & Gauer, F. (2007). *Melatonin affects nuclear orphan receptors mRNA in the rat suprachiasmatic nuclei.* Neuroscience, 144(2), 522–530.

Ahmed, O., Farid, A., Elamir, A. (2022). *Dual role of melatonin as an anti-colitis and anti-extra intestinal alterations against acetic acid-induced colitis model in rats.* Scientific Reports, 12(1):6344

Ahmed, R., Mahavadi, S., Al-Shboul, O., Bhattacharya, S., Grider, J. R., & Murthy, K. S. (2013). *Characterization of signaling pathways coupled to melatonin receptors in gastrointestinal smooth muscle.* Regulatory Peptides, 184, 96–103.

Aikiyo, S., Kishi, K., Kaji, N., Mikawa, S., Kondo, M., Shimada, S., & Hori, M. (2020). *Contribution of Serotonin 3A Receptor to Motor Function and Its Expression in the Gastrointestinal Tract.* Digestion, 1–11.

Alvaro, D., Cantafora, A., Attili, A. F., Ginanni Corradini, S., De Luca, C., Minervini, G., Angelico, M. et al. (1986). *Relationships between bile salts hydrophilicity and phospholipid composition in bile of various animal species.* Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry, 83(3), 551–554.

Ambid, L., Hanoun, N., Truel, N., Larrouy, D., Andre, M., Casteilla, L. & Penicaud, L. (1998). *Melatonin increases leptin gene expression in brown and white adipose tissues of the garden dormouse*. International Journal of Obesity 22, S168.

Anderberg, E. K., & Artursson, P. (1993). *Epithelial Transport of Drugs in Cell Culture. VIII: Effects of Sodium Dodecyl Sulfate on Cell Membrane and Tight Junction Permeability in Human Intestinal Epithelial (Caco-2) Cells*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 82(4), 392–398.

Anderson, J. W., & Bridges, S. R. (1984). *Short-Chain Fatty Acid Fermentation Products of Plant Fiber Affect Glucose Metabolism of Isolated Rat Hepatocytes.* Experimental Biology and Medicine, 177(2), 372–376.

Arnao, M. B., & Hernández-Ruiz, J. (2015). *Functions of melatonin in plants: a review.* Journal of Pineal Research, 59(2), 133–150.

Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Le Paslier, D., Yamada, T., Mende, D. R., Fernandes, G. R., Tap, J., Bruls, T., Batto, J. M., Bertalan, M., Borruel, N., Casellas, F., Fernandez, L., Gautier, L., Hansen, T., Hattori, M., Hayashi, T., Kleerebezem, M., Kurokawa, K., Bork, P. et al. (2011). *Enterotypes of the human gut microbiome*. Nature, 473(7346), 174–180.

Axelrod, J., & Weissbach, H. (1961). *Purification and properties of hydroxyindole-O-methyl transferase*. The Journal of Biological Chemistry, 236, 211–213.

Axelrod, J., Wurtman, R.J. & Snyder, S.H. (1965). *Control of hyroxyindole O-methyltransferase aktivity in the rat pineal gland by environmental lighting*. The Journal of Biological Chemistry, 240:949-954.

Bach, A. G., Wolgast, S., Muhlbauer, E., & Peschke, E. (2005). *Melatonin stimulates inositol-1,4,5-trisphosphate and Ca2+ release from INS1 insulinoma cells.* Journal of Pineal Research, 39(3), 316–323.

Badaway, A. A.-B. (2017). *Kynurenine Pathway of Tryptophan Metabolism: Regulatory and Functional Aspects.* International Journal of Tryptophan Research, 10, 117864691769193.

Ball, H. J., Sanchez-Perez, A., Weiser, S., Austin, C. J. D., Astelbauer, F., Miu, J., McQuillan, J. A., Stocker, R., Jermiin, L. S., & Hunt, N. H. (2007). *Characterization of an indoleamine 2,3-dioxygenase-like protein found in humans and mice.* Gene, 396(1), 203–213.

Ballatori, N., Christian, W. V., Lee, J. Y., Dawson, P. A., Soroka, C. J., Boyer, J. L., Madejczyk, M. S., & Li, N. (2005). *OSTα-OSTβ: A major basolateral bile acid and steroid transporter in human intestinal, renal, and biliary epithelia.* Hepatology, 42(6), 1270–1279.

Barajas-López, C., Peres, A. L., Espinosa-Luna, R., Reyes-Vázquez, C., & Prieto-Gómez, B. (1996). *Melatonin modulates cholinergic transmission by blocking nicotinic channels in the guinea-pig submucous plexus.* European Journal of Pharmacology, 312(3), 319–325.

Barberino, R. S., Menezes, V. G., Ribeiro, A. E. A. S., Palheta Jr, R. C., Jiang, X., Smitz, J. E. J., & Matos, M. H. T. (2017). *Melatonin protects against cisplatin-induced ovarian damage in mice via the MT1 receptor and antioxidant activity.* Biology of Reproduction, 96(6), 1244–1255.

Bateup, J. M., McConnell, M. A., Jenkinson, H. F., & Tannock, G. W. (1995). *Comparison of Lactobacillus strains with respect to bile salt hydrolase activity, colonization of the gastrointestinal tract, and growth rate of the murine host.* Applied and Environmental Microbiology, 61(3), 1147–1149.

Bazwinsky-Wutschke, I., Wolgast, S., Mühlbauer, E., Albrecht, E., & Peschke, E. (2012). *Phosphorylation of cyclic AMP-response element-binding protein (CREB) is influenced by melatonin treatment in pancreatic rat insulinoma β-cells (INS-1).* Journal of Pineal Research, 53(4), 344–357.

Bazwinsky-Wutschke, I., Bieseke, L., Mühlbauer, E., & Peschke, E. (2013). *Influence of melatonin receptor signalling on parameters involved in blood glucose regulation.* Journal of Pineal Research, 56(1), 82–96.

Becker-André, M., Weisenberg, I., Schaeren-Wiemers, N., Andre, E., Missbach, M., Saurat, J.H., Carlberg, C. (1994). *Pineal hormone melatonin binds and activates an orphan of the nuclear receptor superfamily*. Journal of Biological Chemistry 269, 28531–28534.

Beg, A. A., Finco, T. S., Nantermet, P. V., & Baldwin, A. S. (1993). *Tumor necrosis factor and interleukin-1 lead to phosphorylation and loss of I kappa B alpha: a mechanism for NF-kappa B activation.* Molecular and Cellular Biology, 13(6), 3301–3310.

Berson, D. M. (2002). *Phototransduction by Retinal Ganglion Cells That Set the Circadian Clock*. Science, 295(5557), 1070–1073.

Bervoets, L., Van Hoorenbeeck, K., Kortleven, I., Van Noten, C., Hens, N., Vael, C., Vankerckhoven, V. et al. (2013). *Differences in gut microbiota composition between obese and lean children: a cross-sectional study.* Gut Pathogens, 5(1), 10.

Bierring, F. (1962). *Electron microscopic observations on the mucus production in human and rat intestinal goblet cells.* Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica, 54(3), 241–252.

Binder, H. J., & Mehta, P. (1989). *Short-chain fatty acids stimulate active sodium and chloride absorption in vitro in the rat distal colon.* Gastroenterology, 96(4), 989–996.

Bisquert, R., Muñiz-Calvo, S., & Guillamón, J. M. (2018). *Protective Role of Intracellular Melatonin Against Oxidative Stress and UV Radiation in Saccharomyces cerevisiae.* Frontiers in Microbiology, 9.

Blair, J. B., Cook, D. E., & Lardy, H. A. (1973). *Interaction of propionate and lactate in the perfused rat liver. Effects of glucagon and oleate*. The Journal of Biological Chemistry, 248(10), 3608–3614.

Bloch, K. (1965). *The Biological Synthesis of Cholesterol*. Science, 150(3692), 19–28.

Boeckxstaens, G. E., Tytgat, G. N., Wajs, E., van Nueten, L., de Ridder, F., Meulemans, A., & Tack, J. (2006). *The influence of the novel 5-HT1 Aagonist R137696 on the proximal stomach function in healthy volunteers.* Neurogastroenterology and Motility, 18(10), 919–926.

Boureau, H., Decré, D., Carlier, J. P., Guichet, C., & Bourlioux, P. (1993). *Identification of a Clostridium cocleatum strain involved in an anti-Clostridium difficile barrier effect and determination of its mucin-degrading enzymes.* Research in Microbiology, 144(5), 405–410.

Brauner, A., Soderhall, M., Jacobson, S. H., Lundahl, J., Andersson, U., & Andersson, J. (2001). *Escherichia coli-induced expression of IL-1alpha, IL-1beta, IL-6 and IL-8 in normal human renal tubular epithelial cells*. Clinical and Experimental Immunology, 124(3), 423–428.

Bruno, V. A., Scacchi, P. A., Perez-Lloret, S., Esquifino, A. I., Cardinali, D. P., & Cutrera, R. A. (2005). *Melatonin treatment counteracts the hyperthermic effect of lipopolysaccharide injection in the Syrian hamster.* Neuroscience Letters, 389(3), 169–172.

Brzozowska, I., Konturek, P. C., Brzozowski, T., Konturek, S. J., Kwiecien, S., Pajdo, R., Drozdowicz, D., Pawlik, M., Ptak, A., & Hahn, E. G. (2002). *Role of prostaglandins, nitric oxide, sensory nerves and gastrin in acceleration of ulcer healing by melatonin and its precursor, L-tryptophan.* Journal of Pineal Research, 32(3), 149–162.

Brzozowski, T., Konturek, P. C., Konturek, S. J., Pajdo, R., Bielanski, W., Brzozowska, I., Stachura, J., & Hahn, E. G. (1997). *The role of melatonin and L-tryptophan in prevention of acute gastric lesions induced by stress, ethanol, ischemia, and aspirin.* Journal of Pineal Research, 23(2), 79–89.

Bubenik, G. A., Brown, G. M., & Grota, L. J. (1977). *Immunohistological localization of melatonin in the rat digestive system.* Experientia, 33(5), 662–663.

Bubenik, G. A. (1980). *Localization of Melatonin in the Digestive Tract of the Rat.* Hormone Research, 12(6), 313–323.

Bubenik, G. A. (1986). *The Effect of Serotonin, N-Acetylserotonin, and Melatonin on Spontaneous Contractions of Isolated Rat Intestine.* Journal of Pineal Research, 3(1), 41–54.

Bubenik, G. A., & Dhanvantari, S. (1989). *Influence of Serotonin and Melatonin on Some Parameters of Gastrointestinal Activity.* Journal of Pineal Research, 7(4), 333–344.

Bubenik, G. A., & Pang, S. F. (1994). *The role of serotonin and melatonin in gastrointestinal physiology: Ontogeny, regulation of food intake, and mutual serotonin-melatonin feedback.* Journal of Pineal Research, 16(2), 91–99.

Bubenik, G. A., & Brown, G. M. (1997). *Pinealectomy Reduces Melatonin Levels in the Serum but Not in the Gastrointestinal Tract of Rats.* Neurosignals, 6(1), 40–44.

Buonocore, G., Perrone, S., & Tataranno, M. L. (2010). *Oxygen toxicity: chemistry and biology of reactive oxygen species.* Seminars in Fetal and Neonatal Medicine, 15(4), 186–190.

Butzner, J. D., Parmar, R., Bell, C. J., & Dalal, V. (1996). *Butyrate enema therapy stimulates mucosal repair in experimental colitis in the rat.* Gut, 38(4), 568–573.

Canpolat, S., Aydin, M., Yasar, A., Colakoglu, N., Yilmaz, B., & Kelestimur, H. (2006). *Effects of pinealectomy and exogenous melatonin on immunohistochemical ghrelin staining of arcuate nucleus and serum ghrelin leves in the rat.* Neuroscience Letters, 410(2), 132–136.

Carrillo-Vico, A., Lardone, P. J., Naji, L., Fernández-Santos, J. M., Martín-Lacave, I., Guerrero, J. M., & Calvo, J. R. (2005). *Beneficial pleiotropic actions of melatonin in an experimental model of septic shock in mice: regulation of pro-/anti-inflammatory cytokine network, protection against oxidative damage and anti-apoptotic effects.* Journal of Pineal Research, 39(4), 400–408.

Carrillo-Vico, A., Reiter, R. J., Lardone, P. J., Herrera, J. L., Fernández Montesinos, R., Guerrero, J. M. & Pozo, D. (2006). *The modulatory role of melatonin on immune responsiveness.* Current Opinion in Investigational Drugs 7, 423–431.

Carter, D. S. & Goldman, B. D. (1983). *Antigonadal effects of timed melatonin infusion in pinealectomized male Djungarian hamster (Phodopus sungorus sungorus): duration is the critical parameter.* Endocrinology 113, 1261–1267.

Center, S. A. (1993). *Serum Bile Acids in Companion Animal - Medicine*. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 23(3), 625–657.

Chan, H. C., Lui, K. M., Wong, W. S., & Poon, A. M. S. (1998). *Effect of melatonin on chloride secretion by human colonic T84 cells.* Life Sciences, 62(23), 2151–2158.

Chen, W.-J. L., Anderson, J. W., & Jennings, D. (1984). *Propionate May Mediate the Hypocholesterolemic Effects of Certain Soluble Plant Fibers in Cholesterol-Fed Rats.* Experimental Biology and Medicine, 175(2), 215–218.

Chen, Y.-H., Xu, D.-X., Wang, J.-P., Wang, H., Wei, L.-Z., Sun, M.-F., & Wei, W. (2006). *Melatonin protects against lipopolysaccharide-induced intra-uterine fetal death and growth retardation in mice.* Journal of Pineal Research, 40(1), 40–47.

Chojnacki, C., Popławski, T., Blasiak, J., Chojnacki, J., Reiter, R. J., & Klupinska, G. (2013). *Expression of Melatonin Synthesizing Enzymes inHelicobacter pyloriInfected Gastric Mucosa.* BioMed Research International, 2013, 1–7.

Christiaens, H., Leer, R. J., P.H. Pouwels, & Verstraete, W. (1992). *Cloning and expression of a conjugated bile acid hydrolase gene from Lactobacillus plantarum by using a direct plate assay*. Applied and Environmental Microbiology, 58(12), 3792–3798.

Coleman, J. P., & Hudson, L. L. (1995). *Cloning and characterization of a conjugated bile acid hydrolase gene from Clostridium perfringens.* Applied and Environmental Microbiology, 61(7), 2514–2520.

Comalada, M., Bailón, E., de Haro, O., Lara-Villoslada, F., Xaus, J., Zarzuelo, A., & Gálvez, J. (2006). *The effects of short-chain fatty acids on colon epithelial proliferation and survival depend on the cellular phenotype.* Journal of Cancer Research and Clinical Oncology, 132(8), 487–497.

Coon, S. L., Roseboom, P. H., Baler, R., Weller, J. L., Namboodiri, M. A. A., Koonin, E. V., & Klein, D. C. (1995). *Pineal Serotonin N-Acetyltransferase: Expression Cloning and Molecular Analysis.* Science, 270(5242), 1681–1683.

Coon, S. L., Bégay, V., Falcón, J., & Klein, D. C. (1998). *Expression of melatonin synthesis genes is controlled by a circadian clock in the pike pineal organ but not in the trout.* Biology of the Cell, 90(5), 399–405.

Costa, M. S., Santee, U. R., Cavalcante, J. S., Moraes, P. R., Santos, N. P., & Britto, L. R. (1999). *Retinohypothalamic projections in the common marmoset (Callithrix jacchus): A study using cholera toxin subunit B.* The Journal of comparative neurology, 415(3), 393–403.

Craven, P. A., & DeRubertis, F. R. (1988). *Role of Activation of Protein Kinaso C in the Stimulation of Colonic Epithelial Proliferation by Unsaturated Fatty Acids*. Gastroenterology, 95(3), 676–685.

Cregan, J., & Hayward, N. J. (1953). *Bacterial Content of Healthy Small Intestine.* British Medical Journal, 1(4824), 1356–1359.

Crouse, J. R., Gerson, C. D., DeCarli, L. M., & Lieber, C. S. (1968). *Role of acetate in the reduction of plasma free fatty acids produced by ethanol in man*. Journal of Lipid Research, 9(4), 509–512.

Darfeuille-Michaud, A., Neut, C., Barnich, N., Lederman, E., Di Martino, P., Desreumaux, P., Gambiez, L., Joly, B., Cortot, A., & Colombel, J.-F. (1998). *Presence of adherent Escherichia coli strains in ileal mucosa of patients with Crohn's disease.* Gastroenterology, 115(6), 1405–1413.

Darrow, J. M., & Goldman, B. D. (1986). *Circadian Regulation of Pineal Melatonin and Reproduction in the Djungarian Hamster.* Journal of Biological Rhythms, 1(1), 39–54.

Deaver, J. A., Eum, S. Y., & Toborek, M. (2018). *Circadian Disruption Changes Gut Microbiome Taxa and Functional Gene Composition.* Frontiers in Microbiology, 9.

De Goffau, M. C., Fuentes, S., van den Bogert, B., Honkanen, H., de Vos, W. M., Welling, G. W., Hyöty, H., & Harmsen, H. J. M. (2014). *Aberrant gut microbiota composition at the onset of type 1 diabetes in young children.* Diabetologia, 57(8), 1569–1577.

De Smet, I., Van Hoorde, L., Vande Woestyne, M., Christiaens, H., & Verstraete, W. (1995). *Significance of bile salt hydrolytic activities of lactobacilli.* Journal of Applied Bacteriology, 79(3), 292–301.

Diener, M., Bridges, R. J., Knobloch, S. F., & Rummel, W. (1988*). Neuronally mediated and direct effects of prostaglandins on ion transport in rat colon descendens.* Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 337(1).

Diez-Gonzalez, F., Bond, D. R., Jennings, E., & Russell, J. B. (1999). *Alternative schemes of butyrate production in Butyrivibrio fibrisolvens and their relationship to acetate utilization, lactate production, and phylogeny.* Archives of Microbiology, 171(5), 324–330.

Ding, M., Kinoshita, Y., Kishi, K., Nakata, H., Hassan, S., Kawanami, C., Chiba, T. et al. (1997*). Distribution of prostaglandin E receptors in the rat gastrointestinal tract.* Prostaglandins, 53(3), 199–216.

Donohoe, D. R., Garge, N., Zhang, X., Sun, W., O'Connell, T. M., Bunger, M. K., & Bultman, S. J. (2011). *The Microbiome and Butyrate Regulate Energy Metabolism and Autophagy in the Mammalian Colon.* Cell Metabolism, 13(5), 517–526.

Duan, J. H., & Fang, L. (2014). *MicroRNA-92 promotes gastric cancer cell proliferation and invasion through targeting FXR.* Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine, 35(11), 11013–11019.

Dubbles, R., Reiter, R. J., Klenke, E. et al. (1995). *Melatonin in edible plants identified by radioimmunoassay and by HPLC-MS*. Journal of Pineal Research; 18:28–31.

Dubocovich, M. L. (1988). *Pharmacology and function of melatonin receptors.* The FASEB Journal, 2(12), 2765–2773.

Dubocovich, M. L., Cardinali, D. P., Delagrange, P., Krause, D. N., Stros- berg, A. D., Sudgen, D., Yocca, F. D. (2000). In *The IUPHAR Compendium of Receptor Characterization and Classification.* 2nd Edition*,* D. Girdlestone, Ed. (IUPHAR Media, London).

Dubos, R., & Schaedle, R. W. (1964). *The digestive tract as an ecosystem*. The American journal of the medical sciences, 248, 267–272.

Duchon, J., Barbian, M. E., & Denning, P. W. (2021). *Necrotizing Enterocolitis*. Clinics in perinatology, 48(2), 229–250.

Erspamer, V., & Asero, B. (1952). *Identification of Enteramine, the Specific Hormone of the Enterochromaffin Cell System, as 5-Hydroxytryptamine.* Nature, 169(4306), 800–801.

Esser, C., Ahmadinejad, N., Wiegand, C. et al. (2004). *A genome phylogeny for mitochondria among alpha-proteobacteria and a predominantly eubacterial ancestry of yeast nuclear genes.* Mol Biol Evol; 21:1643–1660.

Fábrega, M.-J., Rodríguez-Nogales, A., Garrido-Mesa, J., Algieri, F., Badía, J., Giménez, R., Gálvez, J., & Baldomà, L. (2017). *Intestinal Anti-inflammatory Effects of Outer Membrane Vesicles from Escherichia coli Nissle 1917 in DSS-Experimental Colitis in Mice*. Frontiers in Microbiology, 8.

Farquhar, M. G., & Palade, G. E. (1963). *Junctional Complexes in Various Epithelia*. The Journal of Cell Biology, 17(2), 375–412.

Ferdinande, L., Demetter, P., Perez-Novo, C., Waeytens, A., Taildeman, J., Rottiers, I., Rottiers, P., De Vos, M., & Cuvelier, C. A. (2008). *Inflamed intestinal mucosa features a specific epithelial expression pattern of indoleamine 2,3-dioxygenase.* International journal of immunopathology and pharmacology, 21(2), 289–295.

Finegold, S. M., Dowd, S. E., Gontcharova, V., Liu, C., Henley, K. E., Wolcott, R. D., Youn, E., Summanen, P. H., Granpeesheh, D., Dixon, D., Liu, M., Molitoris, D. R., & Green, J. A. (2010). *Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children.* Anaerobe, 16(4), 444–453.

Fioretti, M.C., Barzi, F., Martini, L. (1972). *Affinity of melatonin for serotonin receptors in the isolated rat stomach in vitro***.** Rivista di Farmacologia e Terapia. 3:383-391.

Flemström, G., Knutson, L., & Kivilaakso, E. (1986). *Gastroduodenal mucosal secretion of bicarbonate and mucus: physiological control and role in protection*. Klinische Wochenschrift, 64 Suppl 7, 107–111.

Fukumoto, S., Tatewaki, M., Yamada, T., Fujimiya, M., Mantyh, C., Voss, M., Eubanks, S., Harris, M., Pappas, T. N., & Takahashi, T. (2003). *Short-chain fatty acids stimulate colonic transit via intraluminal 5-HT release in rats.* American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 284(5), R1269–R1276.

Ganguly, S., Gastel, J.A., Weller, J.L., Schwartz, Ch. et al (2001). *Role of a pineal cAMP-operated arylalkylamine N-acetyltransferase/14-3–3 binding switch in melatonin synthesis.* Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 98: 8083–8088.

Gao, T., Wang, Z., Dong, Y., Cao, J., Lin, R., Wang, X., Yu, Z., & Chen, Y. (2019). *Role of melatonin in sleep deprivation-induced intestinal barrier dysfunction in mice*. Journal of Pineal Research, e12574.

Gao, Y., Wang, Y., Qian, J., Si, W., Tan, Q., Xu, J., & Zhao, Y. (2020). *Melatonin enhances the cadmium tolerance of mushrooms through antioxidant-related metabolites and enzymes.* Food Chemistry. 330:127263.

Garbutt, J. T., Wilkins, R. M., Lack, L., & Tyor, M. P. (1970*). Bacterial Modification of Taurocholate During Enterohepatic Recirculation in Normal Man and Patients With Small Intestinal Disease.* Gastroenterology, 59(4), 553–566.

Gastel, J. A. (1998). *Melatonin Production: Proteasomal Proteolysis in Serotonin N-Acetyltransferase Regulation.* Science, 279(5355), 1358–1360.

Gekakis, N. (1998*). Role of the CLOCK Protein in the Mammalian Circadian Mechanism.* Science, 280(5369), 1564–1569.

Ghezzi, P., Saccardo, B., & Marina, B. (1986). *Role of reactive oxygen intermediates in the hepatotoxicity of endotoxin.* Immunopharmacology, 12(3), 241–244.

Gill, S. R., Pop, M., DeBoy, R. T., Eckburg, P. B., Turnbaugh, P. J., Samuel, B. S., Gordon, J. I., Relman, D. A., Fraser-Liggett, C. M., & Nelson, K. E. (2006). *Metagenomic Analysis of the Human Distal Gut Microbiome*. Science, 312(5778), 1355–1359.

Gitto, E., Karbownik, M., Reiter, R. J., Tan, D. X., Cuzzocrea, S., Chiurazzi, P., Barberi, I. et al. (2001). *Effects of Melatonin Treatment in Septic Newborns.* Pediatric Research, 50(6), 756–760.

Godson, C., Reppert, S. M. (1997). *The Mel1a melatonin receptor is coupled to parallel signal transduction pathways*. Endocrinology 138, 397-404.

Gophna, U., Sommerfeld, K., Gophna, S., Doolittle, W. F., & Veldhuyzen van Zanten, S. J. O. (2006). *Differences between Tissue-Associated Intestinal Microfloras of Patients with Crohn's Disease and Ulcerative Colitis.* Journal of Clinical Microbiology, 44(11), 4136–4141.

Gönenç, A., Hacışevki, A., Tavil, Y., Çengel, A., & Torun, M. (2013). *Oxidative stress in patients with essential hypertension: A comparison of dippers and non-dippers.* European Journal of Internal Medicine, 24(2), 139–144.

Grill, J. P., Manginot-Dürr, C., Schneider, F., & Ballongue, J. (1995). *Bifidobacteria and probiotic effects: Action of Bifidobacterium species on conjugated bile salts*. Current Microbiology, 31(1), 23–27.

Halpern, M. D., & Dvorak, B. (2008). *Does Abnormal Bile Acid Metabolism Contribute to NEC?* Seminars in Perinatology, 32(2), 114–121.

Hamilton, J. P., Xie, G., Raufman, J.-P., Hogan, S., Griffin, T. L., Packard, C. A., Chatfield, D. A., Hagey, L. R., Steinbach, J. H., & Hofmann, A. F. (2007). *Human cecal bile acids: concentration and spectrum.* American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology, 293(1), G256-263.

Hanson, R. W., & Ballard, F. J. (1967). *The relative significance of acetate and glucose as precursors for lipid synthesis in liver and adipose tissue from ruminants.* Biochemical Journal, 105(2), 529–536.

Hardeland, R., Balzer, I., Poeggeler, B., Fuhrberg, B., Una, H. et al. (1995). *On the primary functions of melatonin in evolution: Mediation of photoperiodic signals in a unicell, photooxidation, and scavenging of free radicals.* Journal of Pineal Research, 18(2), 104–111.

Harlow, H. J., & Weekley, B. L. (1986). *Effect of Melatonin on the Force of Spontaneous Contractions of In Vitro Rat Small and Large Intestine.* Journal of Pineal Research, 3(3), 277–284.

Hattori A., Wada M., Majima A., Tabata M., Itoh M. (1999). *Detection of melatonin and synthesizing enzyme activities in cyanobacterium, Spirulina platensis.* Proceedings of the Japan Society of Comparative Endocrinology; 14:49.

Hepner, G. W., Hofmann, A. F., & Thomas, P. J. (1972). *Metabolism of steroid and amino acid moieties of conjugated bile acids in man. I. Cholylglycine*. The Journal of Clinical Investigation, 51(7), 1889–1897.

Hermes, M. L., Coderre, E. M., Buijs, R. M., & Renaud, L. P. (1996). *GABA and glutamate mediate rapid neurotransmission from suprachiasmatic nucleus to hypothalamic paraventricular nucleus in rat.* The Journal of Physiology, 496(3), 749–757.

Hernández-Ruiz, J., Cano, A., Arnao, M.B. (2004). *Melatonin: growth-stimulating compound present in lupin tissues*. Planta; 220:140–144.

Hoffman, R. A., & Reiter, R. J. (1965). *Pineal Gland: Influence on Gonads of Male Hamsters.* Science, 148(3677), 1609–1611.

Holland, H. D. (2002). *Volcanic gases, black smokers, and the great oxidation event.* Geochimica et Cosmochimica Acta, 66(21), 3811–3826.

Hong, G.-X., & Pang, S. F. (1995). *N-Acetyltransferase activity in the quail (Coturnix coturnix jap) duodenum.* Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 112(2), 251–255.

Hoskins, L. C., Agustines, M., McKee, W. B., Boulding, E. T., Kriaris, M. S., & Niedermeyer, G. (1985). *Mucin degradation in human colon ecosystems. Isolation and properties of fecal strains that degrade ABH blood group antigens and oligosaccharides from mucin glycoproteins.* Journal of Clinical Investigation, 75(3), 944–953.

Høverstad, T., & Midtvedt, T. (1986). *Short-Chain Fatty Acids in Germfree Mice and Rats.* The Journal of Nutrition, 116(9), 1772–1776.

Hu, Z.-P., Fang, X.-L., Fang, N., Wang, X.-B., Qian, H.-Y., Cao, Z., Cheng, Y., Wang, B.-N., & Wang, Y. (2013). *Melatonin ameliorates vascular endothelial dysfunction, inflammation, and atherosclerosis by suppressing the TLR4/NF-κB system in high-fat-fed rabbits*. Journal of Pineal Research, 55(4), 388–398.

Huether, G., Poeggeler, B., Reimer, A., & George, A. (1992a). *Effect of tryptophan administration on circulating melatonin levels in chicks and rats: Evidence for stimulation of melatonin synthesis and release in the gastrointestinal tract.* Life Sciences, 51(12), 945–953.

Huether, G., Hajak, G., Reimer, A., Poeggeler, R., Blomer, M., Rodenbeck, A., Ruther, E., (1992b). *The metabolic fate of infused L-tryptophan in men: Possible clinical implications of the accumulation of circulating tryptophan and tryptophan metabolites*. Psychopharmacology. 106:422-432.

Hugon, P., Dufour, J.-C., Colson, P., Fournier, P.-E., Sallah, K., & Raoult, D. (2015). *A comprehensive repertoire of prokaryotic species identified in human beings.* The Lancet Infectious Diseases, 15(10), 1211–1219.

Hunt, A. E., Al-Ghoul, W. M., Gillette, M. U., & Dubocovich, M. L. (2001). *Activation of MT2 melatonin receptors in rat suprachiasmatic nucleus phase advances the circadian clock.* American Journal of Physiology-Cell Physiology, 280(1), C110–C118.

Ianăş, O., Olinescu, R., & Bădescu, I. (1991). *Melatonin involvement in oxidative processes.* Endocrinologie, 29(3-4), 147–153.

Ide, T., Okamatsu, H., & Sugano, M. (1978). *Regulation by Dietary Fats of 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzyme a Reductase in Rat Liver.* The Journal of Nutrition, 108(4), 601–612.

Iigo, M., Abe, T., Kambayashi, S., Oikawa, K., Masuda, T., Mizusawa, K., Yanagisawa, T. et al. (2007). *Lack of circadian regulation of in vitro melatonin release from the pineal organ of salmonid teleosts.* General and Comparative Endocrinology, 154(1-3), 91–97.

Itoh, M. T. (1999). *Melatonin, its precursors, and synthesizing enzyme activities in the human ovary*. Molecular Human Reproduction, 5(5), 402–408.

Itoh, K., Chiba, T., Takahashi, S., Ishii, T., Igarashi, K., Katoh, Y., Oyake, T., Hayashi, N., Satoh, K., Hatayama, I., Yamamoto, M., & Nabeshima, Y. (1997). *An Nrf2/Small Maf Heterodimer Mediates the Induction of Phase II Detoxifying Enzyme Genes through Antioxidant Response Elements.* Biochemical and Biophysical Research Communications, 236(2), 313–322.

Iwasaki, K., Ray, P. D., Huang, B.-W., Sakamoto, K., Kobayashi, T., & Tsuji, Y. (2013). *Role of AMP-Activated Protein Kinase in Ferritin H Gene Expression by Resveratrol in Human T Cells*. Biochemistry, 52(30), 5075–5083.

Jou, M.-J., Peng, T.-I., Reiter, R. J., Jou, S.-B., Wu, H.-Y., & Wen, S.-T. (2004). *Visualization of the antioxidative effects of melatonin at the mitochondrial level during oxidative stress-induced apoptosis of rat brain astrocytes.* Journal of Pineal Research, 37(1), 55–70.

Kang, J.-W., Koh, E.-J., & Lee, S.-M. (2011). *Melatonin protects liver against ischemia and reperfusion injury through inhibition of toll-like receptor signaling pathway*. Journal of Pineal Research, 50(4), 403–411.

Karuri, A., Dobrowsky, E., & Tannock, I. (1993). *Selective cellular acidification and toxicity of weak organic acids in an acidic microenvironment.* British Journal of Cancer, 68(6), 1080–1087.

Kasai, C., Sugimoto, K., Moritani, I., Tanaka, J., Oya, Y., Inoue, H., Takase, K. et al. (2015). *Comparison of the gut microbiota composition between obese and non-obese individuals in a Japanese population, as analyzed by terminal restriction fragment length polymorphism and next-generation sequencing.* BMC Gastroenterology, 15(1).

Kassinen, A., Krogius-Kurikka, L., Mäkivuokko, H., Rinttilä, T., Paulin, L., Corander, J., Malinen, E., Apajalahti, J., & Palva, A. (2007). *The Fecal Microbiota of Irritable Bowel Syndrome Patients Differs Significantly From That of Healthy Subjects.* Gastroenterology, 133(1), 24–33.

Kawai, T., Adachi, O., Ogawa, T., Takeda, K., & Akira, S. (1999). *Unresponsiveness of MyD88-Deficient Mice to Endotoxin*. Immunity, 11(1), 115–122.

Kennaway, D. J. (2023). *The mammalian gastro□intestinal tract is a NOT a major extra□pineal source of melatonin in mammals.* Journal of Pineal Research, 75(4).

Kim, M. O., Lee, Y. J., Park, J. H., Ryu, J. M., Yun, S. P., & Han, H. J. (2012). *PKA and cAMP stimulate proliferation of mouse embryonic stem cells by elevating GLUT1 expression mediated by the NF-κB and CREB/CBP signaling pathways.* Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects, 1820(10), 1636–1646.

Klein, D. C., & Weller, J. L. (1970). *Indole Metabolism in the Pineal Gland: A Circadian Rhythm in N-Acetyltransferase.* Science, 169(3950), 1093–1095.

Klein, D. C., Coon, S. L., Roseboom, P. H., Weller, J. L., Bernard, M., Gastel, J. A., Zatz, M., Iuvone, P. M., Rodriguez, I. R., Bégay, V., Falcón, J., Cahill, G. M., Cassone, V. M., & Baler, R. (1997). *The melatonin rhythm generating enzyme: molecular regulation of serotonin N-acetyltransferase in the pineal gland.* Recent Progress in Hormone Research. 52: 307–358.

Knapp, S., Kehring, A., Stepp, J., Calton, C. M., Gephart, S. M., Bandlamuri, S., Boyle, K. E., Dietz, G. I., Johnson, H., Romo, R. E., Spencer, M., Bedrick, A. D., & Halpern, M. D. (2020). *Elevated Coefficient of Variation in Total Fecal Bile Acids Precedes Diagnosis of Necrotizing Enterocolitis.* Scientific Reports, 10(1).

Korf, H. W., Schomerus, C., Maronde, E., & Stehle, J. H. (1996). *Signal transduction molecules in the rat pineal organ: Ca2+, pCREB, and ICER.* The Science of Nature, 83(12), 535–543.

Kurland, C. G., & Andersson, S. G. E. (2000). *Origin and Evolution of the Mitochondrial Proteome.* Microbiology and Molecular Biology Reviews, 64(4), 786–820.

Lai, J., Li, F., Li, H., Huang, R., Ma, F., Gu, X., Cai, Y., Huang, D., Li, S., Xiao, S., & Hao, H. (2024). *Melatonin alleviates necrotizing enterocolitis by reducing bile acid levels through the SIRT1/FXR signalling axis.* International Immunopharmacology, 128, 111360.

Lan, F., Cacicedo, J. M., Ruderman, N., & Ido, Y. (2008). *SIRT1 Modulation of the Acetylation Status, Cytosolic Localization, and Activity of LKB1*. Journal of Biological Chemistry, 283(41), 27628–27635.

Lardone, P. J., Álvarez-Sánchez, N., Rodríguez-Rodríguez, A., Guerrero, J. M., & Carrillo-Vico, A. (2013). *Multiple Facets of Melatonin in Immunity: Clinical Applications.* Melatonin and Melatonergic Drugs in Clinical Practice, 117–141.

Lee, H., Zhang, Y., Lee, F. Y., Nelson, S. F., Gonzalez, F. J., & Edwards, P. A. (2005). *FXR regulates organic solute transporters α and β in the adrenal gland, kidney, and intestine.* Journal of Lipid Research, 47(1), 201–214.

Lee, K., Choi, G. H., Back, K. (2022). *Functional Characterization of Serotonin N-Acetyltransferase in Archaeon Thermoplasma volcanium.* Antioxidants (Basel, Switzerland), 11(3):596.

Lee, P. P. N., & Pang, S. F. (1992). *Identification and characterization of melatonin binding sites in the gastrointestinal tract of ducks.* Life Sciences, 50(2), 117–125.

Legris, G. J., Will, P. C., Hopfer, U. (1982). *Inhibition of amiloride-sensitive sodium conductance by indoleamines.* Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 79(6):2046-205*0*

Leng, R., Steel, J., & Luick, J. (1967). *Contribution of propionate to glucose synthesis in sheep.* Biochemical Journal, 103(3), 785–790.

Lerner, A. B., Case, J. D., Takahashi, Y., Lee, T. H., & Mori, W. (1958). *Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes.* Journal of the American Chemical Society, 80(10), 2587–2587.

Ley, R. E., Bäckhed, F., Turnbaugh, P., Lozupone, C. A., Knight, R. D., & Gordon, J. I. (2005). *Obesity Alters Gut Microbial Ecology.* Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 102(31), 11070–11075.

Liang, X., Bushman, F. D., & FitzGerald, G. A. (2015). *Rhythmicity of the intestinal microbiota is regulated by gender and the host circadian clock*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 112(33), 10479–10484.

Liu, C., Weaver, D. R., Jin, X., Shearman, L. P., Pieschl, R. L., Gribkoff, V. K., & Reppert, S. M. (1997). *Molecular Dissection of Two Distinct Actions of Melatonin on the Suprachiasmatic Circadian Clock.* Neuron, 19(1), 91–102.

Liu, T., & Borjigin, J. (2005). *N-acetyltransferase is not the rate-limiting enzyme of melatonin synthesis at night.* Journal of Pineal Research, 39(1), 91–96.

Lu, W. Z., Gwee, K. A., Moochhalla, S., & Ho, K. Y. (2005). *Melatonin improves bowel symptoms in female patients with irritable bowel syndrome: a double-blind placebo-controlled study.* Alimentary Pharmacology and Therapeutics, 22(10), 927–934.

Lucchelli, A., Santagostino-Barbone, M. G., & Tonini, M. (1997). *Investigation into the contractile response of melatonin in the guinea-pig isolated proximal colon: the role of 5-HT4 and melatonin receptors.* British Journal of Pharmacology, 121(8), 1775–1781.

Lyons, T. W., Reinhard, C. T., & Planavsky, N. J. (2014). *The rise of oxygen in Earth's early ocean and atmosphere.* Nature, 506(7488), 307–315.

Lyra, A., Rinttilä, T., Nikkilä, J., Krogius-Kurikka, L., Kajander, K., Malinen, E., Mättö, J., Mäkelä, L., & Palva, A. (2009). *Diarrhoea-predominant irritable bowel syndromedistinguishable by 16S rRNA gene phylotype quantifcation.* World Journal of Gastroenterology, 15(47), 5936.

Macfabe, D., Cain, D., Rodriguezcapote, K., Franklin, A., Hoffman, J., Boon, F., Taylor, A., Kavaliers, M., & Ossenkopp, K. (2007). *Neurobiological effects of intraventricular propionic acid in rats: Possible role of short chain fatty acids on the pathogenesis and characteristics of autism spectrum disorders.* Behavioural Brain Research, 176(1), 149–169.

Macfarlane, S., & Macfarlane, G. T. (2003). *Regulation of short-chain fatty acid production.* Proceedings of the Nutrition Society, 62(01), 67–72.

Manchester, L. C., Poeggerel, B. Alvares, F. L., Ogden, G. B., Reiter, R. J. (1995) *Melatonin immunoreactivity in the photosynthetic prokaryote,* Rhodospirillum rubrum*: implications for an ancient antioxidant system*. Cellular and Molecular Biology Research. 41:391-395.

Manchester, L. C., Coto-Montes, A., Boga, J. A., Andersen, L. P. H. et al. (2015). *Melatonin: an ancient molecule that makes oxygen metabolically tolerable.* Journal of Pineal Research, 59(4), 403–419.

Manichanh, C. (2006). *Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn's disease revealed by a metagenomic approach.* Gut, 55(2), 205–211.

Manrique, P., Bolduc, B., Walk, S. T., van der Oost, J., de Vos, W. M., & Young, M. J. (2016). *Healthy human gut phageome.* Proceedings of the National Academy of Sciences, 113(37), 10400–10405.

Martin-Gallausiaux, C., Larraufie, P., Jarry, A., Béguet-Crespel, F., Marinelli, L., Ledue, F., Reimann, F., Blottière, H. M., & Lapaque, N. (2018). *Butyrate Produced by Commensal Bacteria Down-Regulates Indolamine 2,3-Dioxygenase 1 (IDO-1) Expression via a Dual Mechanism in Human Intestinal Epithelial Cells.* Frontiers in Immunology, 9.

Masuda, T., Iigo, M., Mizusawa, K., Naruse, M., Oishi, T., Aida, K., & Tabata, M. (2003). *Variations in Plasma Melatonin Levels of the Rainbow Trout (Oncorhynchus mykiss) under Various Light and Temperature Conditions.* Zoological Science, 20(8), 1011–1016.

Mayo, J. C., Sainz, R. M., Tan, D.-X., Hardeland, R., Leon, J., Rodriguez, C., & Reiter, R. J. (2005). *Anti-inflammatory actions of melatonin and its metabolites, N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine (AFMK) and N1-acetyl-5-methoxykynuramine (AMK), in macrophages.* Journal of Neuroimmunology, 165(1-2), 139–149.

Miller, D. L. (1971). *Rat small intestine: Development, composition and effects of perfusion.* The American Journal of Digestive Diseases, 16(3), 247–254.

Miller, T. L., & Wolin, M. J. (1996). *Pathways of acetate, propionate, and butyrate formation by the human fecal microbial flora*. Applied and Environmental Microbiology, 62(5), 1589–1592.

Molinari, E. J., North, P. C., Dubocovich, M. L. (1996). *2-[I-125]iodo-5-methoxycarbonylamino-N-acetyltryptamine: a selective radioligand for the characterization of melatonin ML(2) binding sites*. European Journal of Pharmacology, 301: 159–168.

Morgan, P., Lawson, W., Davidson, G., Howell, H. (1989*). Melatonin inhibits cyclic AMP in cultured ovine pars tuberalis cells.* Journal of Molecular Endocrinology, 3: R5–R8.

Mrnka, L., Hock, M., Rybová, M., & Pácha, J. (2008). *Melatonin inhibits prostaglandin E2- and sodium nitroprusside-induced ion secretion in rat distal colon.* European Journal of Pharmacology, 581(1-2), 164–170.

Mustonen, A.-M., Nieminen, P., & Hyvärinen, H. (2001). *Preliminary Evidence That Pharmacologic Melatonin Treatment Decreases Rat Ghrelin Levels.* Endocrine, 16(1), 43–46.

Mustonen, A., Nieminen, M. P., & Hyvärinen, H. (2002). *Effects of continuous light and melatonin treatment on energy metabolism of the rat.* Journal of Endocrinological Investigation, 25(8), 716–723.

Muszyńska B., Sułkowska-Ziaja K., Ekiert H. (2011). *Indole compounds in some culinary-medicinal higher basidiomycetes from Poland.* International Journal of Medicinal Mushrooms, 13, 449–454.

Nakazato, M., Murakami, N., Date, Y., Kojima, M., Matsuo, H., Kangawa, K., & Matsukura, S. (2001). *A role for ghrelin in the central regulation of feeding.* Nature, 409(6817), 194–198.

Nankova, B. B., Agarwal, R., MacFabe, D. F., & La Gamma, E. F. (2014). *Enteric Bacterial Metabolites Propionic and Butyric Acid Modulate Gene Expression, Including CREB-Dependent Catecholaminergic Neurotransmission, in PC12 Cells - Possible Relevance to Autism Spectrum Disorders.* PLoS ONE, 9(8), e103740.

Navab-Moghadam, F., Sedighi, M., Khamseh, M. E., Alaei-Shahmiri, F., Talebi, M., Razavi, S., & Amirmozafari, N. (2017). *The association of type II diabetes with gut microbiota composition.* Microbial Pathogenesis, 110, 630–636.

Nelp, M. T., Zheng, V., Davis, K. M., Stiefel, K., & Groves, J. T. (2019). *Potent Activation of Indoleamine 2,3-Dioxygenase by Polysulfides.* Journal of the American Chemical Society, 141(38), 15288–15300.

Nishino, H., Koizumi, K., & Brooks, C. M. (1976). *The role of suprachiasmatic nuclei of the hypothalamus in the production of circadian rhythm.* Brain Research, 112(1), 45–59.

Nosjean, O., Ferro, M., Coge, F., Beauverger, P., Henlin, J. M., Lefoulon, F. et al. (2000). *Identification of the melatonin-binding site MT3 as the quinone reductase 2.* Journal of Biological Chemistry, 275: 31311–31317.

Obsil, T., Ghirlando, R., Klein, D. C., et al. (2001). *Crystal structure of the serotonin N-acetyltransferase complex: a role for scaffolding in enzyme regulation.* Cell 105: 257–267.

Osborn, L., Kunkel, S., & Nabel, G. J. (1989). *Tumor necrosis factor alpha and interleukin 1 stimulate the human immunodeficiency virus enhancer by activation of the nuclear factor kappa B.* Proceedings of the National Academy of Sciences, 86(7), 2336–2340.

Ozaki, Y., & Lynch, H. J. (1976). *Presence of Melatonin in Plasma and Urine of Pinealectomized Rats1.* Endocrinology, 99(2), 641–644.

Pahl, H. L. (1999). *Activators and target genes of Rel/NF-κB transcription factors.* Oncogene, 18(49), 6853–6866.

Pang, S. F., Brown, G. M., Grota, L. J., Chambers, J. W., & Rodman, R. L. (1977). *Determination of N-acetylserotonin and Melatonin Activities in the Pineal Gland, Retina, Harderian Gland, Brain and Serum of Rats and Chickens.* Neuroendocrinology, 23(1), 1–13.

Park, J.-S., Choi, J. W., Jhun, J., Kwon, J. Y., Lee, B.-I., Yang, C. W., Park, S.-H., & Cho, M.-L. (2018*). Lactobacillus acidophilus Improves Intestinal Inflammation in an Acute Colitis Mouse Model by Regulation of Th17 and Treg Cell Balance and Fibrosis Development.* Journal of Medicinal Food, 21(3), 215–224.

Park, Y. S., Kim, S. H., Park, J. W., Kho, Y., Seok, P. R., Shin, J.-H., Choi, Y. J., Jun, J.-H., Jung, H. C., & Kim, E. K. (2020). *Melatonin in the colon modulates intestinal microbiota in response to stress and sleep deprivation.* Intestinal Research, 18(3), 325–336.

Paul, P., Lahaye, C., Delagrange, P., Nicolas, J.P., Canet, E., Boutin, J.A. (1999). *Characterization of 2-[125I]iodomelatonin binding sites in Syrian hamster peripheral organs.* Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 290, 334–340.

Peters, K., Dahlgren, D., Lennernäs, H., & Sjöblom, M. (2021). *Melatonin-Activated Receptor Signaling Pathways Mediate Protective Effects on Surfactant-Induced Increase in Jejunal Mucosal Permeability in Rats.* International Journal of Molecular Sciences, 22(19), 10762.

Pfaff, D.W. and Volkow, N.D. (2016). *Neuroscience in the 21st century: From basic to clinical.* New York: Springer, 2203-2239

Piccinetti, C. C., Migliarini, B., Olivotto, I., Coletti, G., Amici, A., & Carnevali, O. (2010). *Appetite regulation: The central role of melatonin in Danio rerio.* Hormones and Behavior, 58(5), 780–785.

Picinato, M. C., Haber, E. P., Cipolla-Neto, J., Curi, R., de Oliveira Carvalho, C. R., & Carpinelli, A. R. (2002). *Melatonin inhibits insulin secretion and decreases PKA levels without interfering with glucose metabolism in rat pancreatic islets.* Journal of Pineal Research, 33(3), 156–160.

Pickering, D. S., & Niles, L. P. (1990). *Pharmacological characterization of melatonin binding sites in Syrian hamster hypothalamus.* European Journal of Pharmacology, 175(1), 71–77.

Pioli, C., Caroleo, M. C., Nistico, G., & Doriac, G. (1993). *Melatonin increases antigen presentation and amplifies specific and non specific signals for T-cell proliferation.* International Journal of Immunopharmacology, 15(4), 463–468.

Poeggeler, B., Saarela, S., Reiter, R. J., Tan, D. X., Chen, L. D., Manchester, L. C., & Barlow-Walden, L. R. (1994). *Melatonin--a highly potent endogenous radical scavenger and electron donor: new aspects of the oxidation chemistry of this indole accessed in vitro*. Annals of the New York Academy of Sciences, 738, 419–420.

Pomare, E. W., Branch, W. J., & Cummings, J. H. (1985). *Carbohydrate fermentation in the human colon and its relation to acetate concentrations in venous blood*. Journal of Clinical Investigation, 75(5), 1448–1454.

Pouteau, E., Meirim, I., Métairon, S., & Fay, L.-B. (2001). *Acetate, propionate and butyrate in plasma: determination of the concentration and isotopic enrichment by gas chromatography/mass spectrometry with positive chemical ionization.* Journal of Mass Spectrometry, 36(7), 798–805.

Quastel, M. R., & Rahamimoff, R. (1965). *Effect of melatonin on spontaneous contractions and response to 5-hydroxytryptamine of rat isolated duodenum.* British Journal of Pharmacology and Chemotherapy, 24(2), 455–461.

Raikhlin, N. T., Kvetnoy, I. M., & Tolkachev, V. N. (1975). *Melatonin may be synthesised in enterochromaffin cells.* Nature, 255(5506), 344–345.

Rakoff-Nahoum, S., Paglino, J., Eslami-Varzaneh, F., Edberg, S., & Medzhitov, R. (2004). *Recognition of Commensal Microflora by Toll-Like Receptors Is Required for Intestinal Homeostasis.* Cell, 118(2), 229–241.

Rasmussen, D. D., Boldt, B. M., Wilkinson, C. W., Yellon, S. M., & Matsumoto, A. M. (1999). *Daily melatonin administration at middle age suppresses male rat visceral fat, plasma leptin, and plasma insulin to youthful levels* . Endocrinology, 140(2), 1009–1012.

Rehman, S. U., Ikram, M., Ullah, N., Alam, S. I., Park, H. Y., Badshah, H., Choe, K., & Ok Kim, M. (2019). *Neurological Enhancement Effects of Melatonin against Brain Injury-Induced Oxidative Stress, Neuroinflammation, and Neurodegeneration via AMPK/CREB Signaling*. Cells, 8(7), 760.

Reigstad, C. S., Salmonson, C. E., Rainey, J. F., Szurszewski, J. H., Linden, D. R., Sonnenburg, J. L., Farrugia, G., & Kashyap, P. C. (2015). *Gut microbes promote colonic serotonin production through an effect of short-chain fatty acids on enterochromaffin cells.* The FASEB Journal, 29(4), 1395–1403.

Reiter, R. J. (1991). *Melatonin: The chemical expression of darkness.* Molecular and Cellular Endocrinology, 79(1-3), C153–C158

Reiter, R. J., Poeggeler, B., Tan, D.-X., Chen, L.-D., Manchester, L. C., Guerrero, J. M. (1993) *Antioxidant capacity of melatonin: a novel action not requiring a receptor*. Neuroendocrinology Letters, 15:103-116.

Reiter, R. J., Tan, D., Osuna, C., & Gitto, E. (2000). *Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress.* Journal of Biomedical Science, 7(6), 444–458.

Reiter, R. J., Tan, D., & Burkhardt, S. (2002). *Reactive oxygen and nitrogen species and cellular and organismal decline: amelioration with melatonin.* Mechanisms of Ageing and Development, 123(8), 1007–1019.

Reppert, S. M., Godson, C., Mahle, C. D., Weaver, D. R., Slaugenhaupt, S. A., & Gusella, J. F. (1995). *Molecular characterization of a second melatonin receptor expressed in human retina and brain: the Mel1b melatonin receptor.* Proceedings of the National Academy of Sciences, 92(19), 8734–8738.

Reynier, M. O., Montet, J. C., Gerolami, A., Marteau, C., Crotte, C., Montet, A. M., & Mathieu, S. (1981). *Comparative effects of cholic, chenodeoxycholic, and ursodeoxycholic acids on micellar solubilization and intestinal absorption of cholesterol.* Journal of Lipid Research, 22(3), 467–473.

Rice, J., Mayor, J., Tucker, H. A., Bielski, R. J. (1995). *Effect of light therapy on salivary melatonin in seasonal affective disorder*. Psychiatry Research, 56:221-228.

Richter, K., Peschke, E., & Peschke, D. (2002). *A neuroendocrine releasing effect of melatonin in the brain of an insect, Periplaneta americana (L.).* Journal of Pineal Research, 28(3), 129–135.

Rodriguez-Naranjo, M. I., Torija, M. J., Mas, A., Cantos-Villar, E., & Garcia-Parrilla, M. del C. (2012). *Production of melatonin by Saccharomyces strains under growth and fermentation conditions.* Journal of Pineal Research, 53(3), 219–224.

Rodwell, V. W., Nordstrom, J.L., Mitschelen, J.J. (1976). *Regulation of HMG CoA reductase*. Advances in Lipid Research 14:1- 74.

Rowe, W. A., Lesho, M. J., & Montrose, M. H. (1994). *Polarized Na+/H+ Exchange Function is Pliable in Response to Transepithelial Gradients of Propionate.* Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 91(13), 6166–6170.

Sagan, L. (1967) *On the origin of mitosing cells*. Journal of Theoretical Biology; 14:255–274.

Sallinen, P., Saarela, S., Ilves, M., Vakkuri, O., Leppaluoto, J. (2005). *The expression of MT1 and MT2 receptor mRNA in several rat tissues.* Life Sciences; 76:1123–1134.

Savkovic, S. D., Koutsouris, A., & Hecht, G. (1997). *Activation of NF-κB in intestinal epithelial cells by enteropathogenic Escherichia coli*. American Journal of Physiology-Cell Physiology, 273(4), C1160–C1167.

Sewerynek, E., Abe, M., Reiter, R. J., Barlow-Walden, L. R., Chen, L., McCabe, T. J., Diaz-Lopez, B. et al (1995). *Melatonin administration prevents lipopolysaccharide-induced oxidative damage in phenobarbital-treated animals.* Journal of Cellular Biochemistry, 58(4), 436–444.

Scheffer, J., König, W., Hacker, J., & Goebel, W. (1985). *Bacterial adherence and hemolysin production from Escherichia coli induces histamine and leukotriene release from various cells*. Infection and Immunity, 50(1), 271–278.

Schell, M. A., Karmirantzou, M., Snel, B., Vilanova, D., Berger, B., Pessi, G., Zwahlen, M.-C., Desiere, F., Bork, P., Delley, M., Pridmore, R. D., & Arigoni, F. (2002). *The Genome Sequence of Bifidobacterium longum Reflects Its Adaptation to the Human Gastrointestinal Tract*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 99(22), 14422–14427.

Schiff, E. R., Small, N. C., & Dietschy, J. M. (1972). *Characterization of the kinetics of the passive and active transport mechanisms for bile acid absorption in the small intestine and colon of the rat*. Journal of Clinical Investigation, 51(6), 1351–1362.

Schomerus, C., Korf, H.W., Laedtke, E., Weller, J. L. & Klein, D. C. (2000). *Selective adrenergic/cyclic AMP-dependent switch-off of proteasomal proteolysis alone switches on neural signal transduction: an example from the pineal gland.* Journal of Neurochemistry. 75: 2123–2132.

Schwiertz, A., Taras, D., Schäfer, K., Beijer, S., Bos, N. A., Donus, C., & Hardt, P. D. (2010). *Microbiota and SCFA in Lean and Overweight Healthy Subjects.* Obesity, 18(1), 190–195.

Shang, Q., Sun, W., Shan, X., Jiang, H., Cai, C., Hao, J., Li, G., & Yu, G. (2017). *Carrageenan-induced colitis is associated with decreased population of anti-inflammatory bacterium, Akkermansia muciniphila, in the gut microbiota of C57BL/6J mice.* Toxicology Letters, 279, 87–95.

Sharshar, T., Gray, F., de la Grandmaison, G. L., Hopklnson, N. S., Ross, E., Dorandeu, A., Annane, D. et al. (2003) . *Apoptosis of neurons in cardiovascular autonomic centres triggered by inducible nitric oxide synthase after death from septic shock.* The Lancet, 362(9398), 1799–1805.

Shekari, A., Hassani, R. N., Aghdam, M. S., Rezaee, M., & Jannatizadeh, A. (2021). *The effects of melatonin treatment on cap browning and biochemical attributes of Agaricus bisporus during low temperature storage.* Food Chemistry, 348, 129074.

Sjöblom, M., & Flemström, G. (2003). *Melatonin in the duodenal lumen is a potent stimulant of mucosal bicarbonate secretion.* Journal of Pineal Research, 34(4), 288–293.

Slominski, A., Pisarchik, A., Semak, I., Sweatman, T., Wortsman, J., Szczesniewski, A., Slugocki, G., McNulty, J., Kauser, S., Tobin, D. J., Jing, C., & Johansson, O. (2002). *Serotoninergic and melatoninergic systems are fully expressed in human skin.* The FASEB Journal, 16(8), 896–898.

Sommansson, A., Saudi, W. S. W., Nylander, O., & Sjöblom, M. (2013). *Melatonin inhibits alcohol-induced increases in duodenal mucosal permeability in rats in vivo.* American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology, 305(1), G95–G105.

Song, G. H. (2005). *Melatonin improves abdominal pain in irritable bowel syndrome patients who have sleep disturbances: a randomised, double blind, placebo controlled study.* Gut, 54(10), 1402–1407.

Sotak, M., Mrnka, L., & Pacha, J. (2006). *Heterogeneous expression of melatonin receptor MT1 mRNA in the rat intestine under control and fasting conditions.* Journal of Pineal Research, 41(2), 183–188.

Sprenger, J., Hardeland, R., Fuhrberg, B., Han, S. Z. (1999). *Melatonin and other 5-methoxylated indoles in yeast: presence in high concentrations and dependence on tryptophan availability.* Cytologia 64, 209–213.

Stark, A.-A., Russell, J. J., Langenbach, R., Pagano, D. A., Zeiger, E., & Huberman, E. (1994). *Localization of oxidative damage by a glutathione-γ-glutamyl transpeptidase system in preneoplastic lesions in sections of livers from carcinogen-treated rats.* Carcinogenesis, 15(2), 343–348.

Stefulj, J., Hortner, M., Ghosh, M., Schauenstein, K., Rinner, I., Wolfler, A., Liebmann, P. M. et al. (2001). *Gene expression of the key enzymes of melatonin synthesis in extrapineal tissues of the rat.* Journal of Pineal Research, 30(4), 243–247.

Stehle, J. H., Foulkes, N. S., Molina, C. A., Simonneaux, V., Pévet, P., & Sassone-Corsi, P. (1993). *Adrenergic signals direct rhythmic expression of transcriptional represser CREM in the pineal gland.* Nature, 365(6444), 314–320.

Storr, M., Schusdziarra, V., & Allescher, H.-D. (2000). *Inhibition of small conductance K+-channels attenuated melatonin-induced relaxation of serotonin-contracted rat gastric fundus*. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 78(10), 799–806.

Strada, S. J., Klein, D. C., Weller, J., & Weiss, B. (1972). *Effect of norepinephrine on the concentration of adenosine 3', 5'-monophosphate of rat pineal gland in organ culture.* Endocrinology, 90(6), 1470-1475.

Stumpf, I., Mühlbauer, E. & Peschke, E. (2008). *Involvement of the cGMP pathway in mediating the insulin□ inhibitory effect of melatonin in pancreatic β□cells.* Journal of Pineal Research, 45(3), 318–327.

Sugden, D., Valentin C. and Klein, D.C. (1987a). *Hydroxyindole O-Methyltransferase.* Methods in Enzymology, 590–96.

Sugden, L.A., Sugden, D. & Klein, D.C. (1987b). *Alpha 1-adrenoceptor activation elevates cytosolic calcium in rat pinealocytes by increasing net influx.* Journal of Biological Chemistry, 262: 741–745.

Taheri, P., Mogheiseh, A., Shojaee Tabrizi, A., Nazifi, S., Salavati, S., & Koohi, F. (2019). *Changes in thyroid hormones, leptin, ghrelin and, galanin following oral melatonin administration in intact and castrated dogs: a preliminary study.* BMC Veterinary Research, 15(1).

Tajes, M., Gutierrez-Cuesta, J., Ortuño-Sahagun, D., Camins, A., & Pallàs, M. (2009). *Anti-aging properties of melatonin in an in vitro murine senescence model: involvement of the sirtuin 1 pathway.* Journal of Pineal Research, 47(3), 228–237.

Tan, D.X., Chen, L.D., Poeggeler, B., Manchester, L.C., Reiter, R.J. (1993). *Melatonin: a potent, endogenous hydroxyl radical scavenger.* Endocrinology Journal 1, 57–60.

Tan, D.-X., Hardeland, R., Manchester, L. C., Paredes, S. D., Korkmaz, A., Sainz, R. M. et al. (2009). *The changing biological roles of melatonin during evolution: from an antioxidant to signals of darkness, sexual selection and fitness.* Biological Reviews, 85(3):607-23.

Tan, D.-X., Manchester, L. C., Liu, X., Rosales-Corral, S. A., Acuna-Castroviejo, D., & Reiter, R. J. (2012). *Mitochondria and chloroplasts as the original sites of melatonin synthesis: a hypothesis related to melatonin's primary function and evolution in eukaryotes.* Journal of Pineal Research, 54(2), 127–138

Tan, D.-X., Zheng, X., Kong, J., Manchester, L., Hardeland, R., Kim, S. et al. (2014). *Fundamental Issues Related to the Origin of Melatonin and Melatonin Isomers during Evolution: Relation to Their Biological Functions.* International Journal of Molecular Sciences, 15(9), 15858–15890.

Tanaka, H., Hashiba, H., Kok, J., & Mierau, I. (2000). *Bile Salt Hydrolase of Bifidobacterium longum—Biochemical and Genetic Characterization*. Applied and Environmental Microbiology, 66(6), 2502–2512.

Thaiss, Christoph A., Zeevi, D., Levy, M., Zilberman-Schapira, G., Suez, J., Tengeler, Anouk C., Abramson, L., Katz, Meirav N., Korem, T., Zmora, N., Kuperman, Y., Biton, I., Gilad, S., Harmelin, A., Shapiro, H., Halpern, Z., Segal, E., & Elinav, E. (2014). *Transkingdom Control of Microbiota Diurnal Oscillations Promotes Metabolic Homeostasis.* Cell, 159(3), 514–529.

Thaiss, C. A., Levy, M., Korem, T., Dohnalová, L., Shapiro, H., Jaitin, D. A., David, E., Winter, D. R., Gury-BenAri, M., Tatirovsky, E., Tuganbaev, T., Federici, S., Zmora, N., Zeevi, D., Dori-Bachash, M., Pevsner-Fischer, M., Kartvelishvily, E., Brandis, A., Harmelin, A., Shibolet, O., Elinav, E. et al. (2016). *Microbiota Diurnal Rhythmicity Programs Host Transcriptome Oscillations.* Cell, 167(6), 1495–1510.

Torres-Farfan, C., Mendez, N., Abarzua-Catalan, L., Vilches, N., Valenzuela, G. J., & Seron-Ferre, M. (2011). *A Circadian Clock Entrained by Melatonin Is Ticking in the Rat Fetal Adrenal.* Endocrinology, 152(5), 1891–1900.

Turnbaugh, P. J., Hamady, M., Yatsunenko, T., Cantarel, B. L., Duncan, A., Ley, R. E., Sogin, M. L., Jones, W. J., Roe, B. A., Affourtit, J. P., Egholm, M., Henrissat, B., Heath, A. C., Knight, R., & Gordon, J. I. (2008). *A core gut microbiome in obese and lean twins*. Nature, 457(7228), 480–484.

Vaiserman, A., Romanenko, M., Piven, L., Moseiko, V., Lushchak, O., Kryzhanovska, N., Guryanov, V., & Koliada, A. (2020). *Differences in the gut Firmicutes to Bacteroidetes ratio across age groups in healthy Ukrainian population*. BMC Microbiology, 20(1).

Vanecek, J., Sugden, D., Weller, J., & Klein, D. C. (1985). *Atypical synergistic alpha 1- and beta-adrenergic regulation of adenosine 3',5'-monophosphate and guanosine 3',5'-monophosphate in rat pinealocytes.* Endocrinology, 116(6), 2167–2173.

Vázquez, J., González, B., Sempere, V., Mas, A., Torija, M. J., & Beltran, G. (2017). *Melatonin Reduces Oxidative Stress Damage Induced by Hydrogen Peroxide in Saccharomyces cerevisiae.* Frontiers in Microbiology, 8.

Venegas, C., García, J. A., Escames, G., Ortiz, F., López, A., Doerrier, C., García-Corzo, L., López, L. C., Reiter, R. J., & Acuña-Castroviejo, D. (2011). *Extrapineal melatonin: analysis of its subcellular distribution and daily fluctuations.* Journal of Pineal Research, 52(2), 217–227.

Vesely, D. L. (1981). *Melatonin enhances guanylate cyclase activity in a variety of tissues.* Molecular and Cellular Biochemistry, 35(1), 55–58.

Vivien-Roels, B., Pevet, P., Beck, O., & Fevre-Montange, M. (1984). *Identification of melatonin in the compound eyes of an insect, the locust (Locusta migratoria), by radioimmunoassay and gas chromatography-mass spectrometry.* Neuroscience Letters, 49(1-2), 153–157.

Waddell, B., Lewis, R. D., & Engelmann, W. (1990). *Localization of the Circadian Pacemakers of Hemideina thoracica (Orthoptera; Stenopelmatidae).* Journal of Biological Rhythms, 5(2), 131–139.

Weaver, D. R. (1998). *The suprachiasmatic nucleus: a 25-year retrospective.* Journal of Biological Rhythms, 13(2), 100–112.

Weiss, B., & Costa, E. (1968). *Regional and subcellular distribution of adenyl cyclase and 3',5'-cyclic nucleotide phosphodiesterase in brain and pineal gland.* Biochemical Pharmacology, 17(10), 2107–2116.

Wolf, A. M., Wolf, D., Rumpold, H., Moschen, A. R., Kaser, A., Obrist, P., Fuchs, D., Brandacher, G., Winkler, C., Geboes, K., Rutgeerts, P., & Tilg, H. (2004). *Overexpression of indoleamine 2,3-dioxygenase in human inflammatory bowel disease.* Clinical immunology (Orlando, Fla.), 113(1), 47–55.

Xia, M.-Z., Liang, Y.-L., Wang, H., Chen, X., Huang, Y.-Y., Zhang, Z.-H., Chen, Y.-H., Zhang, C., Zhao, M., Xu, D.-X., & Song, L.-H. (2012). *Melatonin modulates TLR4-mediated inflammatory genes through MyD88- and TRIF-dependent signaling pathways in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 cells*. Journal of Pineal Research, 53(4), 325–334.

Xu, P., Li, M., Zhang, J., & Zhang, T. (2012). *Correlation of intestinal microbiota with overweight and obesity in Kazakh school children.* BMC Microbiology, 12(1), 283.

Xu, P., Wang, J., Hong, F., Wang, S., Jin, X., Xue, T., Jia, L., & Zhai, Y. (2017). *Melatonin prevents obesity through modulation of gut microbiota in mice.* Journal of Pineal Research, 62(4).

Yamano, H., Watari, Y., Arai, T., and Takeda, M. (2001). *Melatonin in drinking water synchronizes a circadian rhythm of locomotor activity in the house cricket, Acheta domesticus.* Journal of Insect Physiology, 47, 943–949.

Yardeni, T., Tanes, C. E., Bittinger, K., Mattei, L. M., Schaefer, P. M., Singh, L. N., Wu, G. D., Murdock, D. G., & Wallace, D. C. (2019). *Host mitochondria influence gut microbiome diversity: A role for ROS*. Science Signaling, 12(588).

Yilmaz, B., Juillerat, P., Øyås, O., Ramon, C., Bravo, F. D., Franc, Y., Fournier, N., Michetti, P., Mueller, C., Geuking, M., Pittet, V. E. H., Maillard, M. H., Rogler, G., Wiest, R., Stelling, J., & Macpherson, A. J. (2019). *Microbial network disturbances in relapsing refractory Crohn's disease*. Nature Medicine, 25(2), 323–336.

Zarrinpar, A., Chaix, A., Yooseph, S., & Panda, S. (2014). *Diet and Feeding Pattern Affect the Diurnal Dynamics of the Gut Microbiome*. Cell Metabolism, 20(6), 1006–1017.

Zeng, M. Y., Cisalpino, D., Varadarajan, S., Hellman, J., Warren, H. S., Cascalho, M., Inohara, N., & Núñez, G. (2016). *Gut Microbiota-Induced Immunoglobulin G Controls Systemic Infection by Symbiotic Bacteria and Pathogens*. Immunity, 44(3), 647–658.

Zhang, H.-M., & Zhang, Y. (2014). *Melatonin: a well-documented antioxidant with conditional pro-oxidant actions.* Journal of Pineal Research, 57(2), 131–146.

Zhu, D., Ma, Y., Ding, S., Jiang, H., & Fang, J. (2018). *Effects of Melatonin on Intestinal Microbiota and Oxidative Stress in Colitis Mice.* BioMed Research International, 2018, 1–6.

Zimmerman, B. L. (1975). *Morphologic evidence of photoreceptor differentiation of pinealocytes in the neonatal rat.* The Journal of Cell Biology, 66(1), 60–75.