

CURSO 2015/2016



Universidad de Zaragoza

TRABAJO DE FIN DE GRADO LAS FUNCIONES DE LA MELATONINA

MELATONIN FUNCTIONS

AUTOR: REBECA JARA GÁLVEZ

TUTOR: JOAQUÍN GARCÍA GARCÍA

Facultad de medicina: Departamento de Farmacología y Fisiología

ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico	iNOS	Óxido nítrico sintasa inducible
ADP	Adenosín difosfato	LH	Hormona luteinizante
AFMK	N1-acetil-N2-formil-5-metoxiquinurenamina	LHRH	Hormona liberadora de gonadotropina
AMK	N1-acetil-5-metoxiquinurenamina	NAT	N-Acetiltransferasa
AMPc	Adenosín monofosfato cíclico	NF- κB	Factor nuclear kappa-B
ATP	Adenosín trifosfato	NMDA	N-metil-D-aspartato
Ca ²⁺	Ion calcio	nNOS	Óxido nítrico sintasa neuronal
CAT	Catalasa	NO	Óxido nítrico
COX	Ciclooxigenasa	NSQ	Núcleo supraquiasmático
FOX	Fosforilación oxidativa	NPY	Neuropéptido Y
FSH	Hormona folículoestimulante	O ₂	Oxígeno molecular
GABA	Ácido gamma- aminobutírico	O ₂ ⁻	Anión superóxido
GFAP	Proteína glial fibrilar ácida	·OH	Radical hidroxilo
GM-CFU	Unidades formadoras de colonias de granulocitos y macrófagos	ONOO ⁻	Anión peroxinitrito
GPx	Glutación peroxidasa	RL	Radical libre
GRd	Glutación reductasa	RNS	Especies reactivas de nitrógeno
GSH	Glutación	ROS	Especies reactivas de oxígeno
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno	SCF	Factor de células madre
HIOMT	Hidroxiindol-O-metiltransferasa	SOD	Superóxido dismutasa
IFN	Interferón	TNF	Factor de necrosis tumoral
IL	Interleucina	VIP	Péptido vasoactivo intestinal

ÍNDICE

RESUMEN	5
PALABRAS CLAVE:	5
1. ESTRUCTURA FUNCIONAL DE LA GLÁNDULA PINEAL	6
2. REGULACIÓN DE LA SÍNTESIS DE MELATONINA	9
3. MECANISMOS DE ACCIÓN DE LA MELATONINA	11
4. FUNCIONES	14
4.1 REGULACIÓN DE RITMOS BIOLÓGICOS	14
4.2 MELATONINA Y REPRODUCCIÓN	19
4.3 INMUNOMODULADOR.....	22
4.4 FUNCIÓN ANTIOXIDANTE.....	27
CONCLUSIONES	32
BIBLIOGRAFÍA.....	33

RESUMEN

La glándula pineal es una pequeña estructura ubicada en el techo del diencefalo. De las sustancias que produce, la más estudiada es la melatonina, que se sintetiza siguiendo un ciclo de 24 horas. La síntesis y secreción de melatonina es mayor durante el periodo de oscuridad. Esta variación diurna se origina por las fibras nerviosas retinohipotálamicas que van al núcleo supraquiasmático. Desde el hipotálamo, las vías descendentes convergen en el cordón gris intermediolateral de la médula espinal, así como en las neuronas simpáticas preganglionares, las cuales, a su vez, inervan el ganglio cervical superior. Desde allí salen los nervios simpáticos postganglionares que inervan la pineal, estimulándola mediante la secreción de noradrenalina. Tras todo el proceso de síntesis, la melatonina ejerce importantes funciones, la más conocida, es la regulación de los ritmos sueño-vigilia, por la cual, a día de hoy, la melatonina se emplea en tratamientos para la alteración del ritmo circadiano (*jet lag*). Una de las funciones mejor descritas de la melatonina es la regulación de la reproducción, debido a su efecto inhibitorio sobre las gonadotropinas. Por otra parte, está su función inmunomoduladora al ser inmunoestimulante. Para finalizar, una de las funciones que está tomando importancia creciente, es su función antioxidante.

SUMMARY.

Pineal gland is a small structure located on the roof of the diencephalon, it produces many substances, but the most studied is melatonin, which is synthesized every 24 hours where the synthesis and secretion of melatonin is higher in the dark period. This diurnal variation originates in the retinohypothalamic nerve fibers that go to the suprachiasmatic nucleus. From the hypothalamus, downstream pathways converge in the intermediolateral gray of the spinal cord, as well as in preganglionic sympathetic neurons, which innervate the superior cervical ganglion. From there, the postganglionic sympathetic nerves go and innervate the pineal gland, stimulated by secreting norepinephrine. Melatonin has several functions, the best known is the regulation of circadian rhythms. Nowadays, melatonin is used in treatments for alteration of circadian rhythm (*jet lag*). One of the best described functions, is the regulation of the reproduction, due to its inhibitory effect on gonadotropin. Moreover, melatonin has immunomodulatory function which stimulates the immune system, there are many studies and articles about it. To finish, one of the functions that is getting more important, is its antioxidant function.

PALABRAS CLAVE: Glándula pineal; melatonina; jet lag; cronobiótico; antioxidante; radicales libres.

1. ESTRUCTURA FUNCIONAL DE LA GLÁNDULA PINEAL

La glándula pineal, pertenece al grupo de órganos circunventriculares (Bardasano, 1978). Se origina en el techo del tercer ventrículo, por debajo del extremo posterior del cuerpo calloso, tiene forma cónica y está orientada antero posteriormente reposando sobre el surco que separa los colículos superiores de la pared posterior del tercer ventrículo y se encuentra unida a las comisuras habenuar y posterior (Rouvière, Delmas, 2005) por una formación pedicular llamada tallo pineal, bañada por líquido cefalorraquídeo. (Fig.1). Es evidente en el hombre desde el segundo mes de vida intrauterina e inicia la regresión antes de la pubertad, apareciendo en el tejido concreciones pequeñas de fosfato de calcio o de carbonato de calcio (arena pineal) (Martin, Reichlin, 1987). En el adulto, mide 8 mm de largo y 4 mm de espesor. Pesa entre 100 y 200 mg. Se halla encapsulada por la piamadre, desde la cual le llegan vasos sanguíneos, fibras nerviosas amielínicas y estroma del tejido conjuntivo (Cardinalli, 1985) (Koshy, Vettivel, 2001).

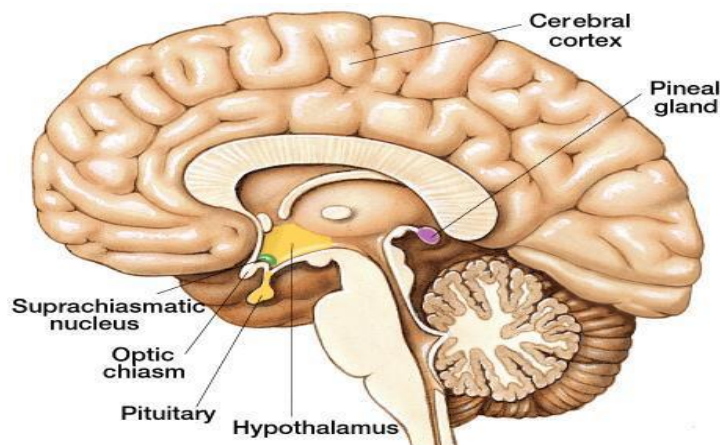


Fig.1 Anatomía de la glándula pineal

Con respecto al desarrollo de la glándula pineal durante el estado embrionario, (Quay, 1974) propuso que durante su desarrollo la glándula pineal pasaba por tres fases bien marcadas: 1) Fase morfogénica: Comienza aproximadamente en el día 30 del desarrollo intrauterino con un esbozo inicial, localizado en la línea mediana del techo del diencéfalo entre las comisuras habenuar y caudal, el receso pineal, que posee una amplia luz en su interior, que presenta comunicación con el tercer ventrículo. Esta fase se prolonga durante dos o tres días. 2) Fase proliferativa: durante este estadio se produce la migración de los precursores celulares de la glándula en estado adulto. A partir del epitelio neural derivarán los pineoloblastos y espongioblastos que darán lugar

a los pinealocitos y astrocitos, respectivamente; de la cresta neural provendrán los células de Schwann, y los melanocitos y por último, del mesénquima meníngeo, derivarán los fibroblastos, células endoteliales, mastocitos. Tras la migración celular la glándula adquiere un aspecto más compacto y se produce la obliteración de la luz del receso pineal, que sucede alrededor del día 98 del desarrollo intrauterino. 3) Fase de hipertrofia glandular: Alrededor del día 118 se completa la maduración de la glándula, que se pueden distinguir dos zonas claramente diferenciadas, las zonas medular y cortical.

En la glándula pineal predominan dos tipos celulares: los pinealocitos y las células intersticiales. La mayor parte de las células parenquimatosas son pinealocitos que se observan como células grandes claras con núcleo redondeado. En los cortes teñidos por impregnación argéntica se observan que poseen largas prolongaciones. Su citoplasma es ligeramente basófilo y contiene gránulos que también se encuentran en las prolongaciones (Fig.2) Con microscopía electrónica se distinguen cantidades moderadas de retículo endoplasmático rugoso y escaso retículo endoplasmático liso, y aparecen abundantes mitocondrias. Un rasgo ultraestructural notable es la aparición de un tipo especial de organela, denominado borde sináptico, con las mismas características ultraestructurales de las células de bastones de la retina. Por otra parte, y en menor cantidad, se encuentran las células intersticiales que son células gliales que se identifican mediante técnicas de inmunohistoquímica por su reacción positiva de la proteína glial fibrilar ácida (GFAP) por lo que están estrechamente relacionadas con los astrocitos fibrosos (Junqueira, Carneiro, 2003).

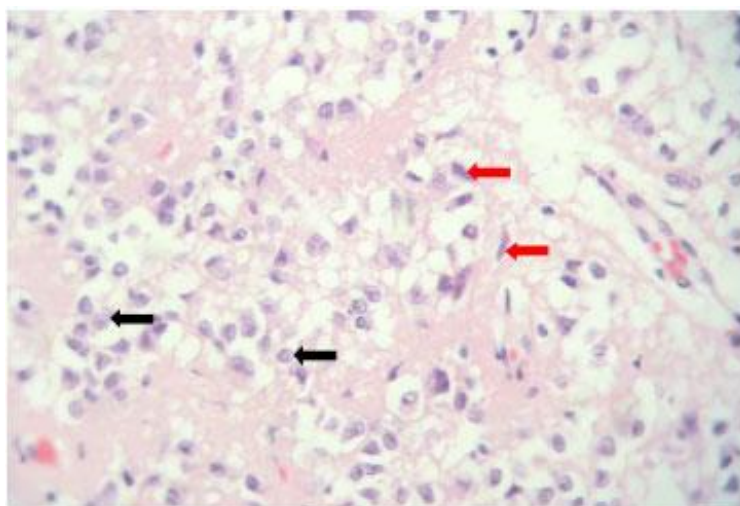


Fig. 2. Histología de la glándula pineal humana H/E 40X. Flechas negras - pinealocitos; Flechas rojas - astrocitos.

La estimulación de los fotorreceptores, durante el período de luz, se transmite por las fibras nerviosas retinohipotalámicas al núcleo supraquiasmático del hipotálamo. Este núcleo tiene conexiones en la columna gris intermediolateral de la médula espinal. De ahí, las neuronas preganglionares pasan al ganglio cervical superior. La inervación principal proviene de fibras simpáticas posganglionares, del ganglio cervical superior (Dualde Beltrán, 2003). Las fibras siguen la arteria carótida interna y llegan a la glándula para formar a ambos lados el nervio coronario que penetra en la parte posterior de la glándula y se ramifica. Las terminales de nervio coronario se relacionan estrechamente con las células parenquimatosas, aunque sin llegar a hacer sinapsis. Las terminales liberan noradrenalina que actúa sobre los receptores betaadrenérgicos en las células parenquimatosas y las estimula para la producción de melatonina (Ganong, 1994). También, hay evidencia que la glándula pineal recibe fibras nerviosas directamente desde el cerebro, a través del tallo de la glándula, algunas de estas fibras nerviosas provienen de la cisura posterior y forman parte de la cintilla óptica, por lo que es posible que la luz afecte a la producción de hormona por esta vía. Recientemente, sea demostrado que también recibe inervación peptidérgica, dado que se descubrieron varios neuropéptidos en las fibras nerviosas simpáticas (neuropéptido Y) y en fibras nerviosas parasimpáticas (péptido vasoactivo intestinal, VIP), se ha demostrado la presencia de receptores para NPY y VIP en la membrana de los pinealocitos. Por último, se ha descrito la existencia de células neuropeptidérgicas en la glándula de las cuales algunas son pinealocitos modificados, que hacen sinapsis con algunos de los demás pinealocitos no peptidérgicos. (Møller, Baeres, 2002).

La glándula pineal presenta una copiosa vascularización. Su flujo de sangre es de 4 ml/min. (Macchi, Bruce, 2004) mucho más alto que cualquier otra glándula endocrina, y sólo superado por los riñones (Cignolani, Houssay, 2000). En los mamíferos la vascularización proviene de las arterias cerebrales posteriores de las que se originan las arterias coroideas posteriores que rodean a la cápsula pineal y penetran en ella (Stehle y cols., 2011). El drenaje venoso viene a confluir a un grueso vaso que tras unirse a la vena cerebral magna desemboca en la porción anterior del seno recto.

2. REGULACIÓN DE LA SÍNTESIS DE MELATONINA

La melatonina es el prototipo de un grupo de compuestos biológicamente muy activos, los metoxindoles. Se aisló en 1959 de pineales bovinas, y químicamente se identificó como N-acetil-5-metoxi-triptamina. Su síntesis depende de las condiciones de la luz ambiental y se estimula por fibras simpáticas postganglionares betaadrenérgicas desde el ganglio cervical superior. La liberación de noradrenalina, provoca un aumento de la actividad adenilatociclasa, el aumento consiguiente de los niveles de monofosfato cíclico de adenosina (AMPc) provoca la transducción de señales, incluido el aumento de la actividad de la proteínkinasa y de la fosforilación de la proteína de fijación del elemento de respuesta del AMPc. (Foulkes y cols., 1997). La luz ambiental inhibe la descarga de las fibras simpáticas, mientras que la oscuridad las estimula. (Cardinali, 1983)

La síntesis de melatonina, tiene lugar en el pinealocito, y se inicia con la captación de triptófano de la circulación sistémica. La mayor parte del triptófano se convierte en indolaminas y una pequeña cantidad se utiliza en los procesos de síntesis proteica. El paso inicial es la oxidación del triptófano a 5-hidroxitriptófano por acción de la enzima triptófano-hidroxilasa, reacción que requiere la presencia de hierro, oxígeno y pteridina reducida. En el paso siguiente, el 5-hidroxitriptófano se descarboxila a serotonina por acción de una descarboxilasa de relativa inespecificidad. Las concentraciones de serotonina en la pineal son las más elevadas del organismo y muestran un ritmo diario, con niveles máximos en el periodo luminoso que decaen abruptamente durante la oscuridad. La serotonina, en la pineal, es metabolizada específicamente hacia la formación de melatonina. Esta transformación se lleva a cabo en dos pasos: En primer lugar, la serotonina es acetilada a N-acetilserotonina por acción de una enzima, la N-acetiltransferasa (NAT), que también exhibe un ritmo circadiano con un máximo en la fase oscura y que es la enzima limitante del proceso. A continuación, la N-acetilserotonina se transforma en melatonina por acción de la enzima hidroxindol-O-metiltransferasa (HIOMT), (Fig.3). La melatonina puede sintetizarse fuera de la glándula pineal, principalmente en la retina, en la glándula harderiana y en muchos otros tejidos (Ebadi, Govitrapong, 1986)

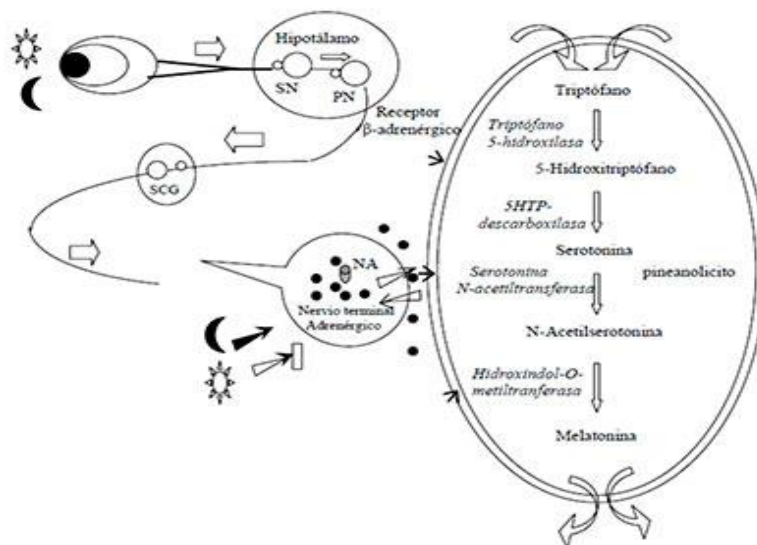


Fig. 3 Síntesis de la melatonina

La síntesis de melatonina muestra un ritmo diario con máximos en la fase oscura. Las señales hormonales también controlan la actividad de la glándula, se han descrito cambios significativos en la función pineal tras la administración de estrógenos, andrógenos, progestágenos, corticoides, tiroxina, gonadotropinas y prolactina, lo que sugiere que, además de las propiedades de transducción neuroendocrina del pinoalocito, existe también un fenómeno de transducción endocrino-endocrina, en el que la célula endocrina quimiorreceptora para cierta hormona transforma el mensaje de ésta en otra hormona diferente, que sería secretada.

Una vez sintetizada, la melatonina es secretada por la glándula pineal por difusión simple, pero no está aclarado si lo hace directamente a la sangre o al líquido cefalorraquídeo. En general, aproximadamente el 70 por ciento de la melatonina circulante está unida a albúmina. En el hombre, la concentración plasmática de melatonina es superior a la que se encuentra en el líquido cefalorraquídeo, lo que apoyaría que la melatonina es secretada a la sangre inicialmente y luego se distribuiría llegando al líquido cefalorraquídeo. Por radioinmunoanálisis se ha determinado que la concentración de melatonina en la pineal humana varía, desde los valores diurnos a los nocturnos entre 50 y 400 ng/glándula y en el plasma oscila entre 10 y 300 pg/ml. (Kappers, 1981)

La melatonina desaparece rápidamente de la sangre después de su administración por vía intravenosa, así como del cerebro después de su administración por vía intracisternal. La vida media es corta, aproximadamente 15 minutos. El hígado es el principal de inactivación. El metoxiindol se hidroxila a 6-hidroximelatonina, que es un compuesto carente de actividad biológica, que luego se conjuga con ácido glucurónico

o sulfúrico, que es la forma en la que se excreta por la orina y las heces. La melatonina también se excreta por la orina en forma libre y esta forma de excreción en humanos presenta un ritmo diario, con un máximo de 60-70% entre las 23 y 7 horas del día siguiente. La melatonina puede ser metabolizada en el cerebro transformándose en quinurenamina, que puede ser degradada posteriormente en el hígado o ser excretada directamente por las heces. (Wurtman, Moskowitz, 1977).

3. MECANISMOS DE ACCIÓN DE LA MELATONINA

La melatonina ejerce sus efectos a través de la interacción con receptores específicos. Los receptores cerebrales para melatonina, fueron identificados mediante el empleo de H³-melatonina como ligando, en membranas de hipotálamo, corteza cerebral y cerebelo. Con la introducción del compuesto 2-(I¹²⁵)-iodomelatonina como marcador de sitios de unión para melatonina se identificó, por métodos bioquímicos y autorradiográficos, una población de sitios receptores en los núcleos supraquiasmáticos, pars tuberalis y área postrema.

La existencia de receptores para melatonina en la propia glándula pineal desempeña un papel importante en la regulación de dicha glándula. La glándula pineal presenta oscilaciones diarias. Estas oscilaciones parecen depender del número de receptores disponibles en cada momento, que a su vez están regulados por los niveles de melatonina circulantes. Es posible que la presencia de concentraciones elevadas de la hormona durante la noche produzca, hacia el final de la fase oscura una desensibilización de sus receptores, mientras que los bajos niveles circulantes de melatonina que se encuentran durante el periodo de luz, permiten el restablecimiento paulatino de dichos receptores y por tanto de su sensibilidad a la administración exógena de la hormona. (Vaughan, 1984)

Los receptores de melatonina pueden clasificarse en MT1, MT2 y MT3. Los receptores MT1 controlan la movilización del Ca²⁺ a través de proteínas G, al igual que los MT2. (Fig.4). Los receptores MT3 menos conocidos, parecen ser una forma de quinona reductasa. Parecería que el receptor MT1 al ser activado por la melatonina ejercería las acciones reproductivas y el ritmo circadiano en mamíferos. El receptor MT2 al ser activado mediaría las acciones de la melatonina en la retina. (Dollins y cols., 1993). Los receptores MT1 son más abundantes en el cerebro, sobretodo en el NSQ, el hipotálamo mediobasal, porción tuberal de la adenohipófisis además de otras regiones

del sistema nervioso central, vasculatura de ciertos órganos y células del sistema inmune . Los receptores MT2 muestran diferencias en su número, con un máximo en las últimas horas de luz, momento de mayor sensibilidad del eje neuroendocrino para los efectos de la melatonina. (Dubocovich, Markowska, 2005)

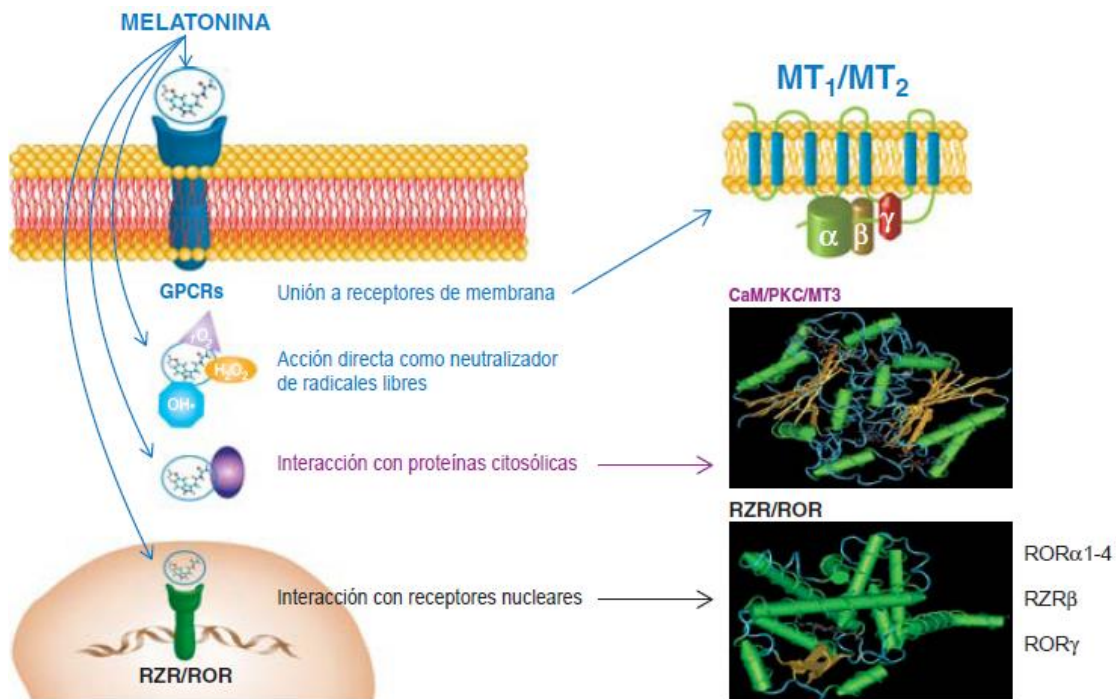


Fig. 4 Mecanismos de acción de la melatonina

Las acciones de la melatonina ligadas a los receptores incluyen tanto receptores de membrana como nucleares, y muchas de estas acciones implican al AMPc y/o a la fosfolipasa C como segundos mensajeros celulares. Hoy día sabemos que la melatonina regula la expresión de diversos genes que controlan la producción de una serie de proteínas. Entre ellas, se encuentran los principales enzimas antioxidantes endógenos, como la glutatión peroxidasa (GPx), la glutatión reductasa (GRd), la superóxido dismutasa (SOD), y la catalasa (CAT). Asimismo, la expresión de enzimas prooxidantes y proinflamatorios, como la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) y la ciclooxigenasa 2 (COX 2), están bajo regulación genómica de la melatonina. La regulación de la melatonina se hace en base a potenciar la expresión de los sistemas endógenos antioxidantes, y reducir los proinflamatorios. Parece que existe una colaboración entre ambos tipos de receptores, nucleares y de membrana, en la regulación de esos sistemas enzimáticos. (Boutin y cols., 2005)

La melatonina se une a proteínas del citosol, como la calmodulina y calreticulina. Ambas son proteínas que se unen al calcio. Mientras que su interacción con la calmodulina tiene interés como mecanismo de regulación del citoesqueleto, la unión a

la calreticulina es altamente específica y se produce con una afinidad en el rango nanomolar (Macías y cols., 2003).

La importancia de la interacción melatonina-calmodulina se ha relacionado con el efecto antiexcitotóxico de la indolamina. Se ha demostrado que, tras esta unión, la melatonina inhibe la óxido nítrico sintasa neuronal (nNOS), impidiendo que el óxido nítrico (NO), estimule la liberación de glutamato, un neurotransmisor excitador en el cerebro, inhibiendo la acción de aquél sobre el receptor N-metil-D-aspartato (NMDA), lo que reduce la excitabilidad eléctrica neuronal y los procesos de muerte neuronal derivados de un exceso de activación NMDA (a lo que se llama excitotoxicidad). Es por ello que la melatonina tiene importantes acciones como anticonvulsivante. (Acuña-Castroviejo y cols., 1994)

Algunos de los efectos de la melatonina no son explicables por su unión a receptores de membrana. Dada la naturaleza lipofílica, que unida a su pequeño tamaño, le permite atravesar fácilmente la membrana plasmática y alcanzar el núcleo celular, se consideró la posibilidad de que algunos de los receptores nucleares de la superfamilia de RZR/ROR, pudiese ser el sitio de unión de la melatonina.

Los efectos directos más conocidos en la actualidad corresponden a los relacionados con la actividad hipotalámica, y parecen adquirir cada vez más importancia los efectos que podría ejercer sobre la propia pineal modulando los receptores hormonales y, por tanto, las señales que provienen del medio interno.

El tratamiento con melatonina modifica diversos indicadores de la función hipotalámica, que comprenden las tasas de recambio de diferentes neurotransmisores como son la serotonina, la dopamina y el GABA. Parece que el efecto principal iría mediado por los cambios en serotonina, pero también modifica la secreción y el contenido hipotalámico de LHRH y la síntesis proteica, en particular de la tubulina, que es la subunidad proteica del sistema microtubular neuronal, afectando por tanto a la conducción del impulso nervioso. (Preslock, 1984)

Un aspecto interesante del mecanismo de acción de la melatonina es su similitud estructural con la indometacina, un agente antiinflamatorio que inhibe la síntesis de prostaglandinas. Esta semejanza llevó a plantear la posibilidad de que la melatonina inhibiese la síntesis de prostaglandinas, lo que se ha comprobado in vitro a nivel del hipotálamo y del útero. La inhibición de la síntesis de prostaglandinas, tanto por la inyección de indometacina como de melatonina provoca un cuadro neuroendocrino semejante: Ambos inhiben la liberación de LH inducida por estrógenos, la elevación postcastración de LH y el ritmo pulsátil de liberación de LH. (Reiter, 1982)

4. FUNCIONES

4.1 REGULACIÓN DE RITMOS BIOLÓGICOS

Desde el nacimiento, nuestro organismo sufre cambios propios del desarrollo, el ser humano en cada una de las etapas de la vida (infancia, adolescencia, adultez y vejez) experimenta una serie de cambios adaptativos al medio en el que se desarrolla, necesarios incluso para la existencia. Además, el ser humano tiene que adaptarse a los cambios geofísicos y responder adecuadamente a ellos (Ángeles-Castellanos y Cols., 2007). Una de las señales más importantes para el organismo es la alternancia del ciclo luz/oscuridad (día/noche) generada por la rotación de la Tierra. Entorno a este ciclo de luz/oscuridad se organizan las actividades diarias de los seres humanos, incluyendo multitud de variables fisiológicas y patológicas (Waterhouse, DeCoursey, 2004).

Cabe aclarar que la organización rítmica de estas variables no sólo depende de la información temporal externa, también depende, y es generada, por un sistema endógeno de medición temporal denominado sistema circadiano. La expresión de los ritmos biológicos es una capacidad inherente a los seres vivos, ya que bajo condiciones de aislamiento de señales externas se sigue expresando independientemente de los ciclos ambientales, y los seres vivos mantienen un periodo similar al que se muestra asociado a los ciclos geofísicos. Se sabe que la expresión de los ritmos biológicos depende de relojes endógenos y de marcapasos, los cuales le confieren al organismo un orden temporal (Magri y Cols., 1997). En mamíferos, el reloj biológico se localiza en los núcleos supraquiasmáticos (NSQ) del hipotálamo. Se trata de 2 pequeños núcleos de unos pocos miles de neuronas, localizados a cada lado del tercer ventrículo y en posición dorsal con respecto al quiasma óptico. El NSQ es el principal marcapasos endógeno, ya que su manipulación o destrucción produce la alteración de prácticamente todos los ritmos circadianos, sobre todo los correspondientes a la actividad motora, la ingestión de alimentos, la temperatura, la conducta sexual, el ciclo sueño-vigilia y a diversas hormonas especialmente la melatonina. El ajuste de los ritmos endógenos con el medio ambiente cíclico se lleva a cabo principalmente por señales luminosas que interactúan con el NSQ por el haz retino hipotalámico. Los mecanismos circadianos que regulan cada proceso rítmico, maduran a diferente velocidad y, por lo tanto, su ritmicidad circadiana alcanza los niveles típicos del adulto a diferentes edades (Mena-Barreto, Colin, 2007).

En la especie humana la melatonina desempeña como función la coordinación de la ritmicidad circadiana, fundamentalmente del ciclo sueño-vigilia. El incremento

vespertino en la secreción de melatonina se encuentra asociado con el desencadenamiento del sueño. La melatonina representa una “manecilla” del reloj biológico en el sentido que responde a señales provenientes del NSQ y que la variación temporal del ritmo de melatonina indica el estado del reloj, tanto en términos de fase (horario en el reloj interno en relación con el horario externo) como de amplitud (Arendt, Skene, 2005). Un respaldo para tal función fisiológica deriva de estudios clínicos en ciegos con ambliopía total que presentan un libre curso de sus ritmos circadianos corregibles por la administración de melatonina. La melatonina en dosis de 3-5 mg diarios mantiene la sincronización del ritmo circadiano a un ciclo de 24 horas también en personas que viven en condiciones de un ritmo libre curso. Además de su efecto en sujetos ciegos con ausencia de visión luz, en adultos mayores normales y en pacientes dementes con desincronización del ciclo sueño-vigilia, la administración de melatonina reduce la variabilidad en la hora de inicio del sueño. El efecto de desplazamiento de la fase por la melatonina es también suficiente para explicar su efectividad como tratamiento de los trastornos del sueño secundarios a alteraciones circadianas como el jet lag o el síndrome de fase retardada del sueño (Brzezinski y Cols., 2005).

Desde la demostración de que la síntesis de melatonina tiene relación con el momento del día, la melatonina se ha convertido en un elemento clave de la investigación en cronobiología. En mamíferos, la melatonina es esencial para la transducción de información del medio externo en respuestas fisiológicas. Debido a su naturaleza lipofílica, la melatonina es capaz de atravesar la placenta y se cree que regula múltiples aspectos de la fisiología neonatal. El ritmo endógeno de melatonina permite el mantenimiento de la sincronía entre relojes circadianos en adultos. Las dosis farmacológicas de melatonina son efectivas para reestablecer ritmos circadianos si se toman en el momento apropiado del día, puede regular factores como la temperatura corporal, la vigilancia, especialmente cuando se toman durante el día (Johnston, Skene, 2015).

En los seres humanos, el efecto de la melatonina como cronobiótico se ha demostrado en el trastorno del jet lag. Éste se produce por la desincronización del reloj circadiano respecto del fotoperiodo cuando se realiza un viaje transmeridiano, lo que repercute principalmente en el ritmo sueño-vigilia. Los síntomas característicos del jet lag son la presencia de insomnio durante la noche y la excesiva somnolencia durante la vigilia, además de malestar gastrointestinal, cefaleas y mareos intermitentes. Estos síntomas se presentan durante los días que tarda el reloj en resincronizarse con el nuevo tiempo local. La administración de la melatonina acelera la resincronización del reloj

circadiano, reduciendo la intensidad y el tiempo en el que se presentan los síntomas del jet lag.

El efecto de la melatonina como cronobiótico se ha demostrado también en las personas de la tercera edad y en los pacientes con enfermedades neuropsiquiátricas. En estas personas el nivel circulante de la melatonina está disminuido lo que genera alteraciones en el reloj biológico, que se reflejan en particular en el ritmo sueño–vigilia (Pévet y Cols., 2002).

Valoración de los ritmos biológicos:

El ritmo sueño/vigilia está regulado por una serie de factores entre los que destacan el sistema circadiano endógeno o reloj biológico y diversos sistemas de homeostasis y factores conductuales. Mientras que los segundos son de tipo causal, el primero desempeña un importante papel en la calidad del sueño. La valoración de la normalidad del reloj biológico se hace determinando su fase circadiana, es decir, el momento de su máximo (acrofase) y de mínimo (nadir) (Dijk y cols., 1994). Para ello, se valora la fase de ritmos fácilmente medibles, como el ritmo de la temperatura corporal o de la melatonina. En el caso del primero, se determina el nadir, que normalmente ocurre alrededor de las cinco de la madrugada, mientras que en el caso de la melatonina se identifica su acrofase alrededor de las tres de la madrugada (Bjorvatn, Pallesen, 2009). En condiciones normales, la relación de fase entre el ritmo circadiano endógeno de melatonina y el ciclo sueño/vigilia es tal que permite el mantenimiento durante toda la fase de vigilia de una función neurobiológica adecuada. Ello se debe a que el marcapasos circadiano contrarresta la disminución de la función neurobiológica asociada a un aumento progresivo del cansancio a lo largo del día y, por tanto, de la necesidad de sueño, con el mantenimiento de la vigilia. Sin embargo, si el período de vigilia se prolonga más allá, hacia la noche biológica, cuando ya se ha iniciado la elevación de la melatonina, se produce una notable disminución de la función neuroconductual porque lo que hace ahora el marcapasos circadiano es promover el sueño. Por este motivo, normalmente, en el momento de acostarse se produce un aumento de la somnolencia, la cual se correlaciona con la actividad electrofisiológica que refleja la denominada apertura de la compuerta del sueño. El aumento de los niveles de melatonina que ocurre en esas etapas se correlaciona también con un descenso de la producción de calor e incremento de su pérdida, condicionando el descenso de la temperatura corporal típico de esta fase. También el aumento de la melatonina es la señal que induce el incremento del flujo sanguíneo hacia las regiones distales de la piel, con la consiguiente pérdida de calor. Asimismo,

la activación electroencefalográfica durante la vigilia se relaciona también con el ritmo de melatonina (Hazlerigg y Cols., 2008). En consecuencia, el marcapasos circadiano controla el ritmo endógeno de melatonina, la termorregulación, el sueño y la activación electroencefalográfica durante la vigilia. Se piensa también que la melatonina ejerce algún efecto de retroalimentación sobre dicho marcapasos y los centros termorreguladores hipotalámicos, de manera que la melatonina inhibe la señal de los NSQ promoviendo pérdida de calor, que a su vez induce somnolencia.

Los ritmos circadianos son patrones de oscilación observados en muchos procesos fisiológicos cuya característica principal es que presentan un período cercano a las 24h y se piensa que surgieron de la adaptación de los seres vivos a la variación periódica de su ambiente (Moore,1983).

La alteración de los ritmos biológicos:

Durante los últimos años, en la ciencia de la cronobiología se han introducido nuevos términos: la desincronización interna, cronodisrupción o interrupción circadiana, que puede definirse como una importante perturbación del orden temporal interno de los ritmos circadianos fisiológicos, bioquímicos y conductuales; y la desincronización externa, que es la pérdida de la relación normal de fase entre los ritmos internos y los ciclos ambientales (Hastings y Cols., 2003). En nuestra sociedad moderna, la desincronización interna o externa se produce por varias situaciones, como el jet-lag y el trabajo nocturno o rotatorio, pero también por otras, como la contaminación lumínica nocturna o la realización de actividades lúdicas preferentemente durante la noche. En los últimos años, el efecto de la desincronización interna sobre la salud humana ha adquirido un papel relevante. La evidencia actual sugiere que la desincronización interna está estrechamente asociada con un aumento del riesgo a desarrollar ciertas enfermedades o el agravamiento de patologías preexistentes, como el envejecimiento prematuro, el cáncer y enfermedades cardiovasculares, además de la obesidad y el síndrome metabólico (Golombeck,2007) (Fig.5).

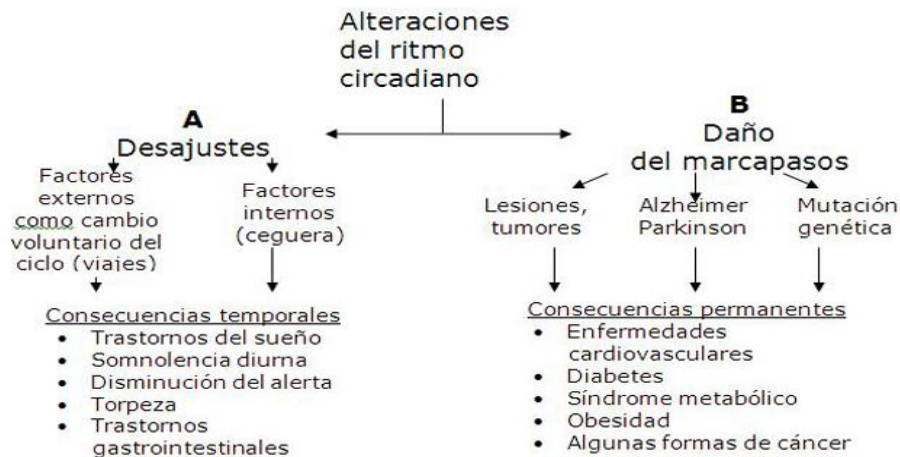


Fig. 5 alteraciones del ritmo circadiano

Actualmente se conoce que muchas hormonas implicadas en el control del metabolismo, como la insulina, el glucagón, la adiponectina, la corticosterona, la leptina y la grelina, muestran una oscilación circadiana, y queda de manifiesto que el reloj biológico puede regular el metabolismo y la homeostasis energética en los tejidos periféricos. Esto se consigue gracias a la capacidad del reloj biológico de regular la expresión y actividad de las enzimas metabólicas y sistemas de transporte relacionados con el metabolismo del colesterol, la regulación de aminoácidos, el ciclo del ácido cítrico y el metabolismo del glucógeno y la glucosa (Froy,2011).

Numerosos estudios epidemiológicos muestran que el trabajo por turnos está asociado con una mayor prevalencia de hipertrigliceridemia, bajos niveles de colesterol HDL, obesidad abdominal, diabetes y enfermedades cardiovasculares. Además, se observa que los trabajadores por turnos presentan valores aumentados de glucosa plasmática, insulina y triglicéridos como respuesta metabólica posprandial, que se asocian con la alteración de la ritmicidad circadiana de la melatonina. Por lo tanto, el trabajo por turnos es otro ejemplo en el que se altera la sincronía normal entre el ciclo luz-oscuridad, el sueño y la alimentación (Kohsaka, Bass, 2007). Junto con el trabajo por turnos, se han encontrado muchos resultados interesantes que relacionan los desórdenes del sueño y la alimentación con la obesidad. Un ejemplo claro se observó cuando un conjunto de estudiantes universitarios se dividió en dos grupos: en un grupo (estilo de vida diurno) los estudiantes se levantaban temprano y realizaban su última comida entre las 19:00 y las 20:00 h; al otro grupo (estilo de vida nocturno) se le permitía levantarse más tarde y realizar su última comida entre las 23:00 y las 24:00 h. Después de tres semanas, los estudiantes nocturnos exhibieron niveles de insulina y de glucosa mucho más altos que los diurnos (Wyatt, 2006).

Las anomalías observadas en los ritmos circadianos en sujetos deprimidos sugieren la probable existencia de alteraciones en la fisiología del sistema circadiano implicadas en la etiopatogenia de la depresión. Entre estas alteraciones podrían señalarse una disfunción central en la generación de los ritmos circadianos o una respuesta anómala del sistema circadiano a los estímulos implicados en el ajuste del reloj principal con el medio ambiente externo como la luz o el ciclo sueño-vigilia (Porterfield y Cols., 1997). Sin embargo, los conocimientos actuales no permiten extraer conclusiones definitivas, por el momento, en lo relativo a la existencia de una posible relación causal directa entre alteraciones del sistema circadiano y la depresión; las anomalías observadas podrían suponer factores de vulnerabilidad o causales, ser una consecuencia del estado depresivo, de interacciones recíprocas, o bien la manifestación de otros procesos que afectaran directamente tanto a los ritmos biológicos como a los mecanismos implicados en la regulación del estado de ánimo (Moffoot y Cols., 1994). La variación diurna del humor, las alteraciones del ciclo sueño-vigilia y las recurrencias periódicas son observaciones clínicas que clásicamente han relacionado los estados depresivos con el sistema circadiano. Asimismo, en los sujetos depresivos se han detectado alteraciones en los ritmos circadianos de la temperatura corporal y varios parámetros endocrinometabólicos como secreción de cortisol, hormona tiroestimulante, melatonina y monoaminas, en comparación con individuos sanos (Folkard y Cols., 1983).

4.2 MELATONINA Y REPRODUCCIÓN

Sin duda, uno de los aspectos de la fisiología pineal que más controversia ha despertado, y que a la vez es uno de los más estudiados, es el papel que la glándula pineal juega en el inicio de la pubertad y de la maduración sexual. La asociación entre la glándula pineal y función reproductora empezó a sospecharse a finales del siglo XIX y principios del XX, cuando se tuvo la oportunidad de observar que algunos niños que presentaban un tumor pineal tenían asociado un cuadro de pubertad precoz.

En la rata y otros animales está demostrado que la glándula pineal juega un papel importante en el inicio de la maduración sexual (Kennaway, Gilmore, 1984). El retardo de la maduración sexual inducido por la pineal es más obvio cuando los animales son sometidos a privación luminosa y a maniobras conocidas que exageran la actividad antigonadotrófica de la pineal (Nowak, Rodway, 1981). Los estudios en ratas indican que la pubertad y la maduración gonadal están asociados a un descenso en los niveles plasmáticos de melatonina. (Reiter, 1968). También, se ha descrito que, en las mujeres ciegas, la menarquia aparece más precozmente.

En escolares antes de que los primeros signos de pubertad se hagan evidentes, se ha descrito un marcado descenso de la melatonina antes de que los incrementos de gonadotrofinas y testosterona se hagan patentes (Silman y Cols., 1979).

Una posible explicación para este descenso en los valores de melatonina circulante con el inicio de la pubertad la aportan (Lemaitre y cols., 1981) quienes observaron que la eliminación diaria de hormona en relación con el peso corporal es alta en recién nacidos, disminuye en lactantes y aumenta progresivamente en niños jóvenes (1-4 años) y en niños mayores (4-13 años), para finalmente descender en adultos. (Vaughan, 1984). Por tanto, existiría una disminución progresiva en los niveles de melatonina circulante desde el nacimiento hasta la edad adulta. Este descenso es más marcado en la crisis genital del recién nacido y al inicio de la pubertad, lo cual coincide con el momento de la diferenciación sexual (Lemaitre y cols., 1981). En cualquier caso, este descenso podría estar en concordancia con una caída progresiva de los niveles de melatonina con la edad (Iguchi y Cols., 1982). O bien podría tratarse de un cambio en el nivel de receptores presentes en la membrana del pinealocito a lo largo de las 24 horas (González-Brito y cols., 1988). Se demostró que este incremento era mayor en niñas que en niños, debido a una mayor amplitud de los episodios secretores, y al mayor incremento de cada episodio secretor. Parece, pues, ponerse de manifiesto en estas observaciones la posible existencia de un metabolismo pineal distinto en niños y niñas en la pubertad.

Las hormonas foliculoestimulante (FSH) y luteinizante (LH) favorecen la maduración gonadal y la esteroidogénesis, capacitando al organismo para que se pueda reproducir. La síntesis y la liberación de las hormonas gonadotrópicas hipofisarias, están reguladas por la hormona hipotalámica liberadora de gonadotrofinas (GnRH).

El generador del pulso hipotalámico, es influido por varios factores entre los que se encuentran: el tono opioide endógeno, así, la B-endorfina inhibe la liberación de GnRH del hipotálamo mediobasal en la especie humana, el GABA también produce inhibición de GnRH en tanto que, esta hormona es estimulada por dopamina (DA), noradrenalina (NA) y serotonina (5HT). Además de los neurotransmisores, hormonas como la inhibina y la activina regulan la liberación de LH y FSH. La inhibina previene la "up regulation" de los receptores por bloquear la estimulación de la síntesis de receptor GnRH producida por la misma hormona, mientras que la activina estimula la síntesis del receptor a GnRH, en cultivo de células hipofisarias. La melatonina, parece jugar un papel muy importante, si no determinante, en la regulación de la síntesis y liberación de gonadotrofinas. Así, en gonadotropos de rata recién nacida, la melatonina inhibe

algunos efectos inducidos por la GnRH como son la liberación de LH y FSH *in vivo* e *in vitro*, los incrementos de cAMP, el incremento de diacilglicerol y el incremento de la concentración intracelular de Ca^{++} . (Fig.6). Además, esta hormona puede ejercer un efecto inhibitor sobre el inicio de la pubertad, al menos, parcialmente al nivel de la hipófisis GnRH en la clínica (Vanecek, 1998).

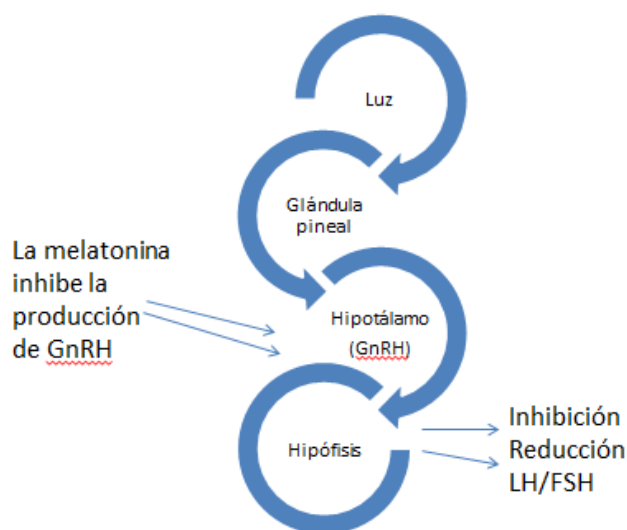


Fig. 6 Regulación de la reproducción por la melatonina

Probablemente, la importancia fisiológica de la melatonina es mayor en las especies de reproducción estacional. De hecho, actualmente se ha demostrado su papel en la regulación de la capacidad reproductora de animales como la oveja y el caballo. Este tipo de estrategia de reproducción probablemente evolucionó con el objeto de sincronizar la duración del día con el período gestacional de la especie, asegurando así que las crías naciesen en una estación del año adecuada y fuese por lo tanto máxima la viabilidad de la descendencia.

Aunque la especie humana, no se caracteriza por la presencia de fuertes patrones estacionales, estudios realizados en diversas áreas geográficas sugieren una distribución estacional de las concepciones. En latitudes septentrionales en las cuales puede haber hasta 2 horas extra de secreción de melatonina en invierno, se han observado descensos invernales en la concentración de esteroides y en las concepciones (Rojansky y cols., 1992). Aunque estos datos parecen sugerir una implicación de la melatonina en el proceso, no hay datos suficientes al respecto que permitan descartar una regulación a través de otros factores ambientales o nutricionales (Wehr, 2001). Una evidencia adicional de la estacionalidad en humanos son los desórdenes afectivos estacionales, caracterizados por episodios recurrentes asociados al invierno, los cuales van remitiendo espontáneamente con el aumento del fotoperiodo. No existen estudios que muestren claramente una correlación entre la

tasa de prevalencia de los desórdenes afectivos estacionales y la secreción de melatonina (Wehr y Cols., 1986).

Se han descrito niveles elevados de melatonina en mujeres con hipogonadismo hipotalámico funcional o inducido por estrés o ejercicio (Berga y cols., 1988), al igual que en hombres con hipogonadismo primario o infertilidad con oligospermia o azospermia (Karasek y Cols., 1990). Así mismo, se ha reportado un aumento transitorio en los niveles de melatonina durante la menopausia, que podría estar relacionado con el descenso en los niveles de estrógenos observados (Okatani, Sagara, 1994). Tras la administración de melatonina, también se han descrito descensos en los niveles de LH, progesterona y estradiol (Voordouw y cols., 1992) mientras que en hombres también se observa un descenso en la producción de LH y una inhibición de la motilidad espermática (Irez y Cols., 1992). Estos hallazgos han sido la base de una serie de estudios encaminados a evaluar el uso de la melatonina como anticonceptivo.

Los efectos de la melatonina en la supresión de la LH fueron evaluados en un estudio (Puig-Domingo y Cols., 1992). Usando una dosis alta de melatonina (300 mg diarios) administrada desde el día uno hasta el treinta del ciclo, en ocho mujeres sanas, fue posible, en el cuarto mes de tratamiento, medir una disminución estadísticamente significativa del área bajo la curva de la LH y estrógenos. La LH disminuyó de 200 UL/día a aproximadamente 145 UL/día. A pesar de la dosis tan elevada, los autores no observaron, ningún tipo de efecto adverso. La respuesta fue modesta, lo que hace dudar del potencial de la melatonina como anticonceptivo. No obstante, la posibilidad de usar la melatonina, sola o en combinación, como anticonceptivo requiere de una más investigación.

4.3 INMUNOMODULADOR

La melatonina tiene acción inmunoestimulante, pudiendo proteger frente a infecciones virales y bacterianas, así como restaurar inmunodeficiencias secundarias. En ausencia de antígenos invasores, la hormona no tiene efecto aparente; en cambio, cuando el sistema está en tensión ayuda a restablecer el equilibrio y a mantenerlo en su nivel de funcionamiento óptimo (Reiter, 2007).

Se han evidenciado los beneficios de la melatonina en la sepsis de niños recién nacidos, así como su potente capacidad *in vitro* de reducir el crecimiento bacteriano, en especial sobre los microorganismos gram-negativos (Tekbas y cols., 2008). Es de esperar que trabajos futuros profundicen en la posible utilidad como agente antibiótico

de la melatonina para su aplicación clínica. La estimulación del sistema inmunitario (Fig.7), puede ayudar a los organismos a combatir la proliferación de células cancerígenas en fases iniciales, antes de que puedan reproducirse y propagarse. Además, la melatonina como hormona circundante regula la producción de estrógenos, testosterona y posiblemente otras hormonas que retrasan o impiden el desarrollo de determinados tipos de tumores. Así, niveles elevados de melatonina reducen la aparición y progresión de cánceres de origen hormonal. Se ha evidenciado en humanos la actividad apoptótica de la melatonina en células tumorales de mama estrógeno-receptor-positivas, de matriz y de próstata a dosis fisiológicas (Levi, Madrid, 2006). También se ha observado su beneficio en el tratamiento del neuroblastoma, un cáncer pediátrico que suele aparecer en el 96 % de casos antes de los 10 años y que cuando se diagnostica suele ya presentar metástasis. A los 6 días de tratamiento la melatonina muestra una capacidad apoptótica sobre las células cancerígenas del 75 % (García-Santos y cols., 2006).

En la actualidad queda todavía por dilucidar el mecanismo de acción antitumoral de la melatonina, pero los buenos datos recabados hasta el momento aportan unas expectativas de intervención futura que obligan a seguir la investigación en este campo. Su administración en mujeres premenopáusicas y menopausicas, bien en combinación con terapia hormonal substitutoria o incluso en monoterapia, puede reducir el riesgo de desarrollar tumores malignos (Witt-Enderby y cols., 2006) y los desórdenes hormonales frecuentemente asociados a este período de la vida.

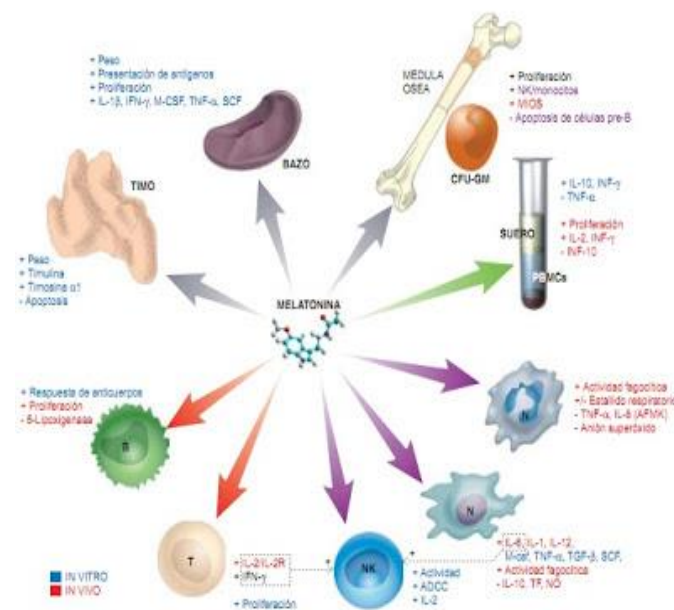


Fig. 7 Función inmunomoduladora de la melatonina en diferentes niveles del sistema inmune.

Melatonina y la inmunidad innata.

La melatonina estimula la producción de células progenitoras de granulocitos y macrófagos (GM-CFU), y tiene una acción estimulante sobre la hemopoyesis (Maestroni, Conti, 1996). Los receptores de la melatonina son detectables en los monocitos / macrófagos (García-Maurino y cols., 2000) y la unión a estos receptores estimula la producción de células GM-CFU (Maestroni y cols., 1994). Un estudio reciente, ha puesto de manifiesto, el tiempo que dependen de la influencia de la melatonina en determinadas células de fundamental importancia para el sistema inmunológico. La melatonina exógena aumenta las células NK y los monocitos, tanto en la médula ósea y el bazo con una latencia de 7 a 14 días (Currier y cols., 2000). Como estas células son los dos componentes de la inmunidad inespecífica, los resultados sugieren que el tratamiento con melatonina podría ser una manera eficaz para detener el crecimiento neoplásico y favorecer la destrucción del virus de las células infectadas. La acción de la melatonina en la producción de monocitos puede ser debido en parte a su acción directa sobre los receptores de melatonina o puede ser debido a un aumento de la sensibilidad de monocitos a los estimulantes como la IL-3, IL-4, IL-6, o el factor estimulante de colonias (GM - CSF). El tratamiento con melatonina, restaura la disminución total de leucocitos en la sangre periférica y en la médula ósea de ardillas pinealectomizadas (Rai, Haldar, 2003). se ha demostrado que los macrófagos forman grandes cantidades de óxido nítrico (NO) en el momento de su activación para ejercer sus propiedades microbicidas. Este exceso de producción de NO puede ser perjudicial para el cuerpo, ya que puede resultar en el desarrollo de enfermedades degenerativas (Minagar y cols., 2002). En un estudio reciente se encontró que la melatonina disminuye la concentración de NO en macrófagos inhibiendo la NO sintasa (Zhang y cols., 2004). Por otra parte, cuando los efectos de la melatonina sobre la actividad fagocítica de los macrófagos se estudiaron que la melatonina estimuló la capacidad fagocítica (Barriga y cols., 2002).

Las células NK desempeñan un papel importante en la vigilancia inmunológica contra neoplasias y virus de las células infectadas. IFN-gamma aumenta la actividad de células NK (Cox y cols., 1982). Se observó que la melatonina exógena en hombres sanos aumentó la sensibilidad a IFN mientras que la administración crónica de melatonina aumentó la actividad espontánea de las células NK y también el número circulante de células NK (Angeli y cols., 1988). El aumento del número de células NK provocados por la administración de melatonina se atribuyó en parte a la mayor producción de citoquinas por las células T helper. Se ha sugerido que IL-2, IL-6, IL-12 e IFN-gamma sean citoquinas que median entre la melatonina y el aumento del

número de células NK. Las células T helper contienen receptores de la melatonina que median en la liberación de citoquinas (Drazen, Nelson, 2001).

Melatonina y la producción de citoquinas.

La melatonina aumenta la producción de IL2, IFN-gamma y de IL-6 (García-Maurino,1997). La melatonina mediante la activación de los monocitos, aumenta la producción de IL-1, IL-6, TNF-alfa. La melatonina también aumenta la producción de IL-12 por los monocitos (Morrey y cols., 1994) y de IFN-gamma por las células Th1. El aumento de la actividad de las células NK por la melatonina se atribuye al aumento de la producción de IL-2 e IL-12 (Lissoni y cols., 1998).

Los linfocitos, desempeñan un papel importante en el estímulo de la IL-2. Después del tratamiento con melatonina, se demostró la regulación de la expresión génica de TGF- β , M-CSF, TNF- α , y el factor de células madre (MCA) en células de exudado peritoneal, y el nivel de la expresión de genes de la IL-1 β , M-CSF, TNF- α , IFN- γ , y SCF en esplenocitos (Liu y cols., 2001). La intensificación de la respuesta inmune por la melatonina depende de su capacidad para aumentar la producción de citocinas, así como su acción anti-apoptosis y la acción antioxidante. Se ha observado en las personas de edad avanzada, que la función de macrófagos y granulocitos disminuye paralelamente a la producción de la melatonina. Puede ser razonable pensar que la inmunosenescencia tiene relación con la disminución de la melatonina y el aumento de edad. Para restaurar la función fagocitaria defectuosa, se ha propuesto el uso de adyuvantes con vacunas y suplementos nutricionales (Fulop y cols., 1999).

Micronutrientes como el zinc, selenio y vitamina E juegan un papel vital en la función fagocitaria (Khanna,1999). Dado que la melatonina puede estimular la respuesta inmune y corregir inmunodeficiencias por regular la producción de citoquinas, podría ser utilizados terapéuticamente para corregir el estado de inmunodeficiencia asociada con el envejecimiento.

Melatonina y la inmunidad celular y humoral.

Además de su acción estimulante en la producción de diversas citoquinas que regulan la función inmunológica, la melatonina tiene propiedades que se han atribuido a una acción directa sobre las células inmunocompetentes. Algunos estudios han demostrado que el timo es un objetivo primordial de la acción de la melatonina. En ratones jóvenes pinealectomizados se aceleró la involución del timo (Csaba y Barath,

1975). En ratones expuestos bajo luz constante, o administrándoles bloqueadores beta-adrenérgicos, hubo una disminución de la celularidad del timo y del bazo, que se recuperó mediante la administración de melatonina exógena (Maestroni y cols., 1988).

La pérdida de timocitos es la principal causa de la atrofia estructural y de la pérdida de peso del timo que se produce con la edad. La administración de melatonina, aumentó el número total de timocitos en ratones. Este efecto protector de la melatonina sobre los timocitos se atribuyó a su acción antiapoptótica ya que la melatonina inhibió la apoptosis inducida por glucocorticoides o el radical hidroxilo (Sáinz y cols., 1999). La disminución de la melatonina asociada a la edad junto a la involución del timo apoya la idea de que la melatonina puede ser un potencial agente terapéutico para la corrección de las inmunodeficiencias asociadas con la edad y, posiblemente, otros estados inmunocomprometidos. Por último, la melatonina administrada por vía oral puede promover la supervivencia (anti-apoptosis) de los precursores de linfocitos B en la médula ósea (Yu y cols., 2000). Esto indica que la melatonina puede impulsar el tratamiento de la supervivencia de las células B maduras que son los elementos funcionales en la inmunidad humoral.

La melatonina aumenta la respuesta inmune celular y humoral. La administración de melatonina a ratones normales o ratones con inmunodeficiencia eleva *in vitro* e *in vivo* las respuestas de los anticuerpos (Nelson y Drazen, 2000).

El papel inmunoestimulador de la melatonina se ejerce principalmente en las células T helper y de los precursores de linfocitos T. Existe la posibilidad de que la melatonina pueda actuar en la médula ósea como lo demuestra la manifestación de la síntesis de melatonina en células de la médula ósea de ratones (Conti y cols., 2000). La existencia de sitios de unión específicos de la melatonina en células linfoides proporciona evidencia de un efecto directo de la melatonina en la regulación del sistema inmunológico. Además, la melatonina contrarresta el efecto inhibitorio de la prostaglandina E_2 sobre la producción de IL-2 en linfocitos a través de sus receptores de membrana MT1 (Carrillo-Vico y cols., 2003). La melatonina aumenta los linfocitos CD4 y disminuye los CD8 en los ganglios linfáticos submaxilares de rata. Durante la historia natural del virus de la inmunodeficiencia humana tipo I (VIH-1) hay una alteración en la producción de IL-12 que precede a una disminución de los CD4. Un estudio reciente indica una correlación de los niveles séricos de la melatonina y la IL-12 en una cohorte de los 77 infectados por VIH-1, se encuentran niveles disminuidos de melatonina en infectados por VIH-1 (Nunnari y cols., 2003).

Además de la liberación de citosinas proinflamatorias, como el IFN-gamma y IL2, la administración de la melatonina aumentó la producción de IL10, lo que indica que la melatonina puede también activar anti-inflamatorios. La melatonina puede corregir inmunodeficiencias secundarias a estrés agudo, enfermedades virales y tratamiento de drogas. En inmunodeprimidos, la acción de la melatonina parece estar restringido a linfocitos T. En condiciones de inmunodeficiencia, la melatonina parece a favor de una respuesta de linfocitos Th1. Un estudio reciente, ha establecidos un papel importante para la melatonina, es decir, como un adyuvante en la vacunación en el ganado ovino, lo que indica claramente que este agente tiene importantes beneficios en el mantenimiento de la salud y tratamiento de enfermedades. (Regodon y cols., 2005).

Acción antiinflamatoria.

La melatonina reduce la lesión tisular durante la respuesta inflamatoria mediante un número importante de medidas, entre las cuales se encuentran: 1) Eliminar radical libre (RL) tóxicos, que reduce el daño macromolecular (Reiter y cols., 2000a). 2) Reducir la traslocación al núcleo y unión al ADN del factor nuclear kappa-B (NF-κB), lo que disminuye la expresión de citoquinas pro-inflamatorias, como la IL-1 y el TNF-α (Gitto y cols., 2005; Reiter y cols., 2000b). 3) Inhibir la producción de moléculas de adhesión que promueven la entrada de leucocitos a las células endoteliales, reduciendo así la migración celular transendotelial y el edema (Maldonado y cols., 2007a; 2007b). 4) Disminuir la síntesis de enzimas que generan prostaglandinas y especies reactivas del oxígeno (Szczepanik, 2007).

4.4 FUNCIÓN ANTIOXIDANTE

Radicales libres y daño oxidativo.

Además del papel de la mitocondria en la producción de ATP, capta Ca^{2+} cuando éste se eleva en el citosol por encima de un valor crítico. Cambios en el Ca^{2+} mitocondrial, no obstante, también afectan a ciertas enzimas del ciclo de Krebs, lo que incrementa, en general, la bioenergética mitocondrial. Este proceso puede volverse en contra si entra Ca^{2+} en exceso, ya que puede causar a un aumento de RL y a la apertura del poro de transición mitocondrial (PTM) y de la apoptosis. La mitocondria posee una cadena transportadora de electrones (CTE) enlazada con un sistema de fosforilación oxidativa (FOX) que permite a la célula obtener hasta el 95% del ATP que requiere. Como la eficiencia mitocondrial no es del 100%, el oxígeno puede reducirse

parcialmente electrones que se escapan de la CTE, lo que produce anión superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y radical hidroxilo ($\cdot OH$), respectivamente, de los cuales el $\cdot OH$ es el más tóxico. (Fig.8). Los radicales libres de oxígeno deberán ser eliminados por el sistema de defensa antioxidante mitocondrial. Entre los principales mecanismos que regulan la función mitocondrial se encuentran el ADP, los valores de Ca^{2+} y el escape de protones (Brown, 1992). La mitocondria posee un mecanismo constitutivo de escape de protones a través de la membrana interna, que controla el metabolismo basal y la producción de RL. Este mecanismo disipa la energía en forma de calor en vez de ATP, lo que permite a la mitocondria mantener la temperatura corporal a un valor más elevado que el ambiental.

Recientemente, se ha conocido que el NO es un nuevo y fundamental regulador de la respiración mitocondrial. El NO compite de manera reversible con el oxígeno en el complejo IV. Las concentraciones normales de O_2 y NO son de 100-500 nM y de 10-30 μM , respectivamente, y tienen un cociente NO / O_2 que causa un 50% de inhibición de la respiración, lo que indica que el NO sirve para la regulación fisiológica de la respiración (Acuña-Castroviejo y cols., 2005). Concentraciones superiores de NO inhiben no sólo el complejo IV, sino también el III y el I, lo que reduce el transporte de electrones y favorece el escape de éstos y la producción de O_2^- . El NO reacciona rápidamente con el O_2^- produciendo peroxinitritos ($ONOO^-$), casi tan tóxicos como el OH^- , y que lesionan de manera irreversible los complejos respiratorios (Cadenas y cols., 1996), e inducen disfunción mitocondrial y muerte celular. La producción mitocondrial de NO parece depender, sobre todo, de una óxido nítrico sintasa mitocondrial (mtNOS), representada por dos isoformas: una, constitutiva y proveniente de la nNOS (c-mtNOS), y la otra, inducible y proveniente de la iNOS (i-mtNOS) (Escames y cols., 2003).



Fig. 8 Radicales libres y daño celular

Aunque se han identificado genes específicos denominados 'del envejecimiento' (Khrapko, Vijg, 2007), hoy en día existen evidencias científicas de que el medio ambiente y la producción endógena de RL participan de una forma importante en el envejecimiento. Podemos considerar actualmente que el envejecimiento es el resultado de un fallo en los sistemas de defensa antioxidante para contrarrestar la lesión inducida por ROS/RNS. El envejecimiento se acompaña de cambios estructurales en las mitocondrias que afectan de manera negativa a la capacidad bioenergética de la célula, lo que induce fallos en la neurotransmisión, así como alteraciones de la memoria y de otras funciones cerebrales (Boveris, Navarro, 2008). La lesión oxidativa mitocondrial es global, y afecta al genoma mitocondrial y a las membranas, con alteraciones en la transcripción y en la traducción mitocondriales, así como en la fluidez de la membrana interna y en la producción de ATP.

Existen publicaciones científicas que avalan la efectividad de la melatonina como antioxidante y depurador de RL. La melatonina depura radical OH^\cdot dando lugar a la 3-OHmelatonina cíclica, que puede emplearse como marcador de estrés oxidativo (Tan y cols, 2003). La acción antioxidante de la melatonina es mucho más efectiva que la de vitaminas (Martin y cols., 2000), lo cual en parte proviene de que es tanto liposoluble como hidrosoluble, y alcanza todos los compartimentos subcelulares en cantidades suficientes. Además, la melatonina regula la expresión y la actividad de las enzimas antioxidantes SOD, catalasa, GPx, GRd (Antolín y cols, 1996). La melatonina también incrementa el contenido intracelular de glutatión (GSH), ya que activa la gammaglutamilcisteín sintasa, la enzima limitante de su síntesis (Bikjdaouene y cols, 2003) El mecanismo de acción de la melatonina incluye su alta capacidad para donar un electrón, debido a su alto potencial redox, de 0,73 V, así como por su capacidad de donar un átomo de hidrógeno al grupo NH del anillo pirrólico, lo que genera un radical de melatonina que reacciona con el O_2^\cdot para producir el N1-acetil-N2-formil-5-metoxiquinurenamina (AFMK) y, tras su deformilación, el N1-acetil-5-metoxiquinurenamina (AMK) (Reiter y cols, 2001). Los metabolitos, AFMK y AMK, son, a su vez, antioxidantes, y constituyen, junto con la melatonina, la denominada cascada antioxidante. (Fig.9). Junto con la 3-OH-melatonina cíclica, se calcula que una molécula de melatonina, a través de esta cascada, puede depurar hasta cuatro especies reactivas (Tan y cols., 2001). Es por esta razón por la que la melatonina es altamente eficaz como antioxidante. Asimismo, la melatonina depura RL. El ONOO^- reacciona con el nitrógeno del anillo pirrólico de la melatonina, y produce 1-nitrosomelatonina y 1-hidroximelatonina (Zhang y cols, 1998). Debido a la alta toxicidad del ONOO^- , la eliminación de los primeros por la melatonina proporciona una

defensa más eficaz que el GSH o las vitaminas. Además, la reacción de la melatonina con los ONOO^- puede producir 6-hidroximelatonina, que se excreta por la orina y podría servir como marcador del estrés oxidativo del organismo (Velkov y cols., 2008). La 6-hidroximelatonina es un antioxidante muy eficaz, incluso más potente que la propia melatonina *in vitro*, lo que contribuye a la eficiencia de esta última. De todas formas, *in vivo* la eficacia antioxidante de la melatonina es mayor que la de cualquiera de sus metabolitos, probablemente a causa del efecto cascada anteriormente comentado.

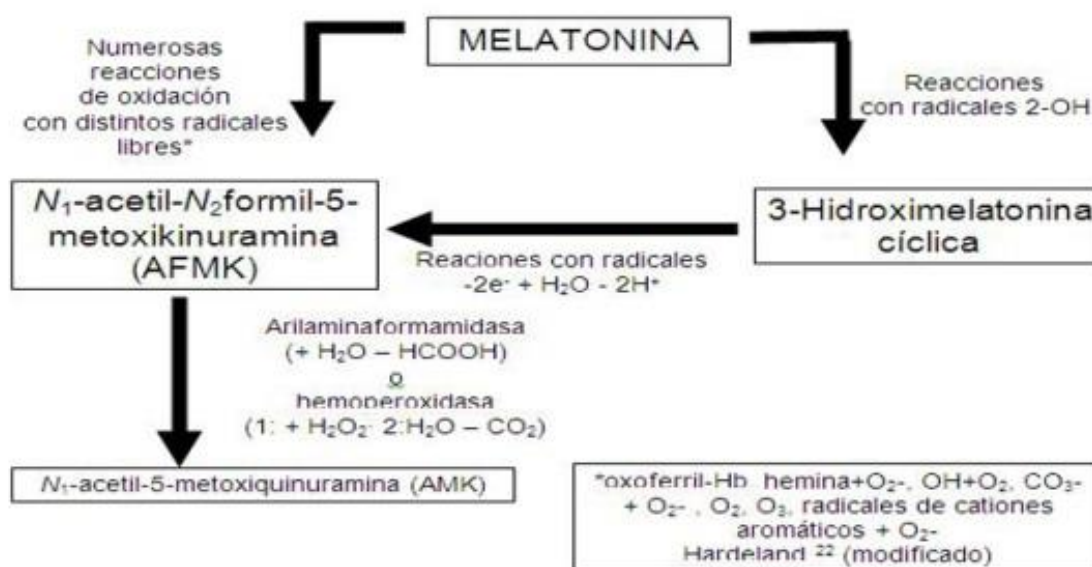


Fig. 9 Melatonina como antioxidante

Si la melatonina ejerce un efecto directo en la mitocondria es que debe llegar a ella. Desde el punto de vista físico-químico no existe inconveniente alguno: la melatonina es una molécula anfipática, lo que le permite cruzar todas las barreras biológicas del organismo. Por tanto, la eficacia de la melatonina frente a la lesión mitocondrial debería encontrarse en su capacidad para entrar en ella y actuar *in situ*.

Estas acciones de la melatonina permiten que contrarreste el estrés oxidativo en el mismo momento en el que se produce, y actúa, por tanto, como un citoprotector mitocondrial. Estos efectos de la melatonina, sin embargo, no se han conseguido con antioxidantes clásicos del tipo vitaminas C y E, o la N-acetilcisteína, incluso cuando éstos se usaron en concentraciones 10.000 veces mayores que las de melatonina.

La acción indirecta más novedosa de la melatonina sobre el estrés oxidativo está basada en sus efectos sobre la mitocondria, los cuales han mostrado que la

melatonina protege contra la pérdida de glutatión mitocondrial y disminuye el daño oxidativo tanto en proteínas como en el ADN mitocondrial, además de activar la cadena transportadora de electrones, mejorando la respiración mitocondrial en incrementando la síntesis de ATP, tanto en condiciones basales como estrés (Acuña-Castroviejo y cols., 2003).

Debido a que numerosas patologías humanas cursan con daño oxidativo, muchos estudios han mostrado los efectos beneficiosos de la melatonina en diversas enfermedades. Así, se ha observado que la melatonina reduce el daño neuronal en la enfermedad de Alzheimer, protege de la muerte a neonatos prematuros que presentan *shock* endotóxico o asfixia neonatal, así como en el síndrome de dificultad respiratoria y en diversos modelos de isquemia/reperfusión (Reiter y cols., 2005).

Los mecanismos de acción a través de los cuales la melatonina ejerce sus efectos antioxidantes se ejercen a través de mecanismos independientes de receptor, favorecido por la capacidad que posee la melatonina para alcanzar cualquier rincón del organismo debido a su solubilidad en cualquier medio biológico. Por otra parte, algunos autores han postulado un efecto de la melatonina sobre el sistema de enzimas antioxidante a través de mecanismos mediados por receptor (Mayo y cols., 2002). En este sentido, se ha propuesto un mecanismo de acción integrado por el cual la melatonina estimula la formación de enzimas antioxidantes a través de la actuación sobre sus receptores nucleares y de membrana, la unión a calmodulina y su efecto directo como neutralizador de radicales libres, a través de un proceso mediado por la regulación del factor de transcripción NF- κ B (Tomas-Zapico y cols., 2005).

CONCLUSIONES

En esta revisión bibliográfica, se ha pretendido compendiar información acerca de la glándula pineal y las diversas funciones de la melatonina. Se puede concluir que la actividad biosintética de la glándula pineal presenta una ritmicidad circadiana, la cual se regula por la actividad nerviosa de las neuronas postganglionares del sistema nervioso simpático provenientes del ganglio cervical superior e incluso también, por las variaciones en el estatus endocrino del individuo a través de receptores específicos para diferentes hormonas que se han encontrado en la pineal. La síntesis y secreción circadiana de la melatonina es muy importante para llevar a cabo sus funciones, donde la ritmicidad es clave. La ritmicidad circadiana también es importante para la regulación de la función reproductora en animales con reproducción estacional, con la finalidad de que nazcan en épocas del año en las que la supervivencia sea mayor. Además de estas funciones, se ha estudiado que la función estimuladora sobre el sistema inmune se efectúa a diferentes niveles, desde los linfocitos B y T hasta mediadores como las citoquinas. En la actualidad, la función inmunomoduladora adquiere importancia en la investigación para el tratamiento del cáncer. Finalmente, la función antioxidante, está tomando importancia, ya que se ha observado la relación estrés oxidativo con enfermedades neurodegenerativas y el cáncer, lo que abre la puerta a la investigación de la melatonina en la prevención y tratamiento de estas enfermedades.

BIBLIOGRAFÍA

- Acuña-Castroviejo D, Fernández B, Castillo JL, Gomar MD y Del Aguila CM. La Glándula Pineal y los Mecanismos de Inhibición en el SNC. En: Muñoz A, Molina A, Jaldo F, Acuña-Castroviejo D, editors. Aspectos Morfofuncionales y Fisiopatológicos de la Glándula Pineal. 1 ed. Madrid: Nuevas Creaciones Médicas, S.L.; 1994; 165-216.
- Acuña-Castroviejo D, Escames G, León J, Carazo A y Khaldy H. Mitochondrial regulation by melatonin and its metabolites. *Developments in tryptophan and serotonin metabolism*. 2003; 549-57.
- Acuña-Castroviejo D, Escames G, López LC, Hitos AB y León J. Melatonin and nitric oxide: Two required antagonists for mitochondrial homeostasis. *Endocrine* 2005; 27: 159-68.
- Ángeles-Castellanos M, Rodríguez K y Salgado R. Cronobiología médica: fisiología y fisiopatología de los ritmos biológicos. *Rev. Fac. Med. UNAM*. 2007; 50:238-41.
- Angeli A, Gatti G, Sartori ML, Ponte D y Carignola R. Effect of exogenous melatonin on human natural killer (NK) cell activity. En: Gupta D, Attanasio A, Reiter RJ, editor. *An approach to the immunomodulatory role of the pineal gland*. Tubingen: Brain Res. Promotion; 1988; 145-56.
- Antolín I, Rodríguez C, Saíenz RM, Mayo JC, Uría H y Kotler ML. Neurohormone melatonin prevents cell damage: effect on gene expression for antioxidant enzymes. *FASEB J*; 1996; 10: 882-90.
- Arendt J y Skene DJ. Melatonin as a chronobiotic. *Sleep Med. Rev.* 2005; 9: 25-39.
- Bardasano J L. La glándula pineal, Blume, Madrid,1978.
- Barriga C, Martín MI, Ortega E y Rodríguez AB. Physiological concentrations of melatonin and corticosterone in stress and their relationship with phagocytic activity. *J. Neuroendocrinol.* 2002; 14:691-5.
- Berga SL, Mortola JF y Yen SS. Amplification of nocturnal melatonin secretion in women with functional hypothalamic amenorrhea. *J.Clin.Endocrinol. Metab* .1988; 66:242-4.
- Bikjdaouene L, Escames G, León J, Ferrer JMR, Khaldy H y Vives F. Changes in brain amino acids and nitric oxide after melatonin administration to pentylentetrazole-induced seizures in rats. *J. Pineal. Res.* 2003; 35: 54-60.
- Bjorvatn B y Pallesen S. A practical approach to circadian rhythm sleep disorders. *Sleep Med. Rev.* 2009; 13: 47-60.
- Boutin JA, Audinot V, Ferry G y Delagrangé P. Molecular tools to study melatonin pathways and actions. *Trends in pharmacological sciences*. 2005; 412-9.
- Boveris A y Navarro A. Brain mitochondrial dysfunction in aging. *IUMB Life* 2008; 60:308-14.

- Brown GC. Control of respiration and ATP synthesis in mammalian mitochondria and cells. *Biochem. J.* 1992; 284:1-13.
- Brzezinski A, Vangel MG, Wurtman RJ, Norrie G, Zhdanova I, Ben Shushan A y Ford I. Effects of exogenous melatonin on sleep: a meta-analysis. *Sleep Med Rev* 2005; 9: 41-50.
- Cadenas E, Poderoso JJ, Antunes F, Boveris A, Lizasoain I y Moro MA. Nitric oxide and peroxynitrite exert distinct effects on mitochondrial respiration which are differentially blocked by glutathione or glucose. *Biochem. J.* 1996; 314: 877-80.
- Cardinali, CP. Molecular mechanism of neuroendocrine integration in the central nervous system: An approach through the study of the pineal gland and its innervating sympathetic pathway, en *Psychoneuroendocrinology*, 1983; 8: 3-30.
- Cardinalli, DP. Glándula pineal, en *Neuroendocrinología. Aspectos básicos y clínicos*, Salvat, Barcelona, 1985; 309-30.
- Carrillo-Vico A, Garcia-Maurino S, Calvo JR y Guerrero JM. Melatonin counteracts the inhibitory effect of PGE2 on IL-2 production in human lymphocytes via its mt1 membrane receptor. *FASEB J.* 2003; 17:755-7.
- Cignolani HE y Houssay AB. *Fisiología Médica de Houssay*. 7ª ed., Buenos Aires: Editorial El Ateneo, 2000.
- Conti A, Conconi S, Hertens E, Skwarlo-Sonta K, Markowska M y Maestroni JM. Evidence for melatonin synthesis in mouse and human bone marrow cells. *J. Pineal Res.* 2000; 28:193-202.
- Cox WI, Holbrook NJ, Grasso RJ, Specter S y Friedman H. Suppression of the natural killer cell activity of murine spleen cell cultures by dexamethasone. *Proc Soc Exp. Biol. Med.* 1982; 171:146-50.
- Csaba G y Barath P. Morphological changes of thymus and the thyroid gland after postnatal extirpation of pineal body. *Endocrinol. Exp.* 1975; 9:59-67.
- Currier NL, Sun LZ y Miller SC. Exogenous melatonin: quantitative enhancement in vivo of cells mediating non-specific immunity. *J. Neuroimmunol.* 2000; 104:101-8.
- Dijk DJ y Czeisler CA. Paradoxical timing of the circadian rhythm of sleep propensity serves to consolidate sleep and wakefulness in humans. *Neurosci Lett* 1994; 166: 63-8.
- Dollins AB, Luch HJ y Wurtman RJ. Effect of pharmacological daytime doses of melatonin on human mood and performance. *Psychopharmacology* 1993; 112:490-6.
- Drazen DL y Nelson RJ. Melatonin receptor subtype MT2 (mel 1b) and not MT1 (mel 1a) is associated with melatonin-induced enhancement of cell mediated and humoral immunity. *Neuroendocrinology* 2001; 74:178-84.
- Dualde Beltrán, D. Estudio comparativo de la organización estructural y funcional de la pineal en la especie ovina. Valencia: Departamento de Ciencias Morfológicas, Universidad de Valencia, 2003. Tesis doctoral.
- Dubocovich ML y Markowska M. Functional MT1 and MT2 melatonin

- receptors in mammals *Endocrine*. 2005; 27:101-10.
- Ebadi, M y Govitrapong P. Neural pathways and neurotransmitters affecting melatonin synthesis, *J. Neural Trasm. Suppl*, 1986; 21: 125-55.
- Escames G, León J, Macías M, Khaldy H y Acuña-Castroviejo D. Melatonin counteracts lipopolysaccharide induced expression and activity of mitochondrial nitric oxide synthase in rats. *FASEB J*. 2003; 17: 932-4.
- Folkard S, Wever RA y Wildgruber CM. Multi-oscillatory control of circadian rhythms in human performance. *Nature* 1983; 305:223-6.
- Foulkes NS, Bojigin J y Snyder SH. Rhythmic transcription. The molecular basis of circadian melatonin synthesis. *Trends Neurosc.* 1997; 20: 487-92.
- Froy O. The circadian clock and metabolism. *Clin Sci*, 2011; 120: 65-72.
- Fulop T, Jr, Wagner JR, Khalil A, Weber J, Trottier L y Payette H. Relationship between the response to influenza vaccination and the nutritional status in institutionalized elderly subjects. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* 1999;54: 59–64.
- Ganong, William. *Fisiología Médica* 14 ed. Manual Moderno, México, D. F. 1994; 498-499.
- Garcia-Maurino S, Gonzalez-Haba MG, Calvo JR, Rafii-el-Idrissi M, Sanchez-Margalet V, Goberna R y Guerrero JM. Melatonin enhances IL-2, IL-6, and IFN-gamma production by human circulating CD4+ cells: a possible nuclear receptor-mediated mechanism involving T helper type 1 lymphocytes and monocytes. *J. Immunol.* 1997; 159:574–81.
- Garcia-Maurino S, Pozo D, Calvo JR y Guerrero JM. Correlation between nuclear melatonin receptor expression and enhanced cytokine production in human lymphocytic and monocytic cell lines. *J. Pineal Res.* 2000; 29:129–37.
- García-Santos G, Antolín I y Herrera F. Melatonin induces apoptosis in human neuroblastoma cancer cells. *J. Pineal Res.* 2006; 41: 130-5.
- Gitto E, Reiter RJ, Sabatino G, Buonocore G, Romeo C, Gitto P, Buggé C, Trimarchi G y Barberi I. Correlation among cytokines, bronchopulmonary dysplasia and modality of ventilation in preterm newborns: improvement with melatonin treatment. *J. Pineal Res.* 2005; 39:287-293.
- Golombek D. *Cronobiología humana; ritmos y relojes biológicos en la salud y en la enfermedad*. Buenos Aires: Universidad Nacional de Quilmes; 2007.
- González-Brito A, Jones DJ, Ademe RM y Reiter RJ. Characterization and measurement of (¹²⁵I)Indopindolol binding in individual rat pineal glands: existence of a 24h rhythm in adrenergic receptor density. *Brain Res.* 1988; 438-514.
- Hastings M, Reddy A y Maywood E. A clockwork web. circadian timing in brain and periphery, in health and disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 2003; 4: 649-61.
- Hazlerigg DG, Johnston JD y Fustin JM. The molecular basis to the circadian effects of melatonin. In Pandi-Perumal SR, Cardinali DP, eds. *Melatonin: from molecules to therapy*.

- New York: Nova Biomedical Books; 2008. p. 196-206.
- Iguchi H, Kato KY y Ibagash H. Age dependent reduction in serum melatonin concentration in the healthy human subjects. *J.Clin. Endocrinol. Metab.* 1982; 55:27-9.
- Irez TO, Senol H, Alagoz M, Basmaciogullari C, Turan F, Kuru D y Ertungealp E. Effects of indoleamines on sperm mobility in vitro. *Hum. Reprod.* 1992; 7: 987-90.
- Johnston JD y Skene DJ. 60 year of neuroendocrinology, Regulation of mammalian neuroendocrine physiology and rhythms by melatonin. *J. Endocrinol.* 226(2) 2015.
- Junqueira LC y Carneiro J. *Basic Histology: Text & Atlas.* 10th ed. Lange Medical Books Mc Graw-Hill, 2003.
- Kappers JA. A survey of advances in pineal research, en *The pineal gland. Anatomy and Biochemistry*, CRC press, Boca Raton, Florida 1981; 1-26.
- Karasek M, Pawlikowski M, Nowakowska-Jankiewicz B, Kolodziej-Maciejewska H, Zielenlewsld J, Cieslak D y Leidenberger F. Circadian variations in plasma melatonin, FSH, LH, prolactin and testosterone levels in infertile men. *J. Pineal Res.* 1990 9:149-57.
- Kennaway DJ y Gilmore TA. Effects of melatonin implants in ewe lambs. *J. Reprod. Fert.* 1984; 39-45.
- Khanna KV y Markham RB. A perspective on cellular immunity in the elderly. *Clin. Infect. Dis.* 1999; 28:710-3.
- Khrapko K, y Vijg J. Mitochondrial DNA mutations and aging: a case closed. *Nat. Genet.* 2007; 39: 445-6.
- Kohsaka A y Bass J. A sense of time: how molecular clocks organize metabolism. *Trends Endocrinol. Metab.* 2007; 18: 4-11.
- Koshy S y Vettivel SK. Varying appearances of calcification in human pineal gland: a light microscopic study. *J. Anat. Soc. India*, 2001; 50:17-8.
- Lemaitre BJ, Bouille. J y Hartmann L. Variation in urinary melatonin excretion in humans during the first 30 years of life. *Clin. Chim. Ada*, 1981; 110: 77-82.
- Levi F y Madrid JA. Ritmos biológicos y cáncer. En: Madrid, JA y Rol de Lama, MA (Eds.). *Cronobiología básica y clínica.* Pp. 709-746. Madrid: Editorial 2006.
- Lissoni P, Rovelli F, Brivio F, Brivio O y Fumagalli L. Circadian secretions of IL-2, IL-12, IL-6 and IL-10 in relation to the light/dark rhythm of the pineal hormone melatonin in healthy humans. *Nat. Immun.* 1998; 16:1-5.
- Liu F, Ng TB y Fung MC. Pineal indoles stimulate the gene expression of immunomodulating cytokines. *J. Neural. Transm.* 2001; 108:397-405.
- Macchi, M. y Bruce, JN. Human pineal physiology and functional significance of melatonin. *Frontiers in Neuroendocrinol.* 2004; 25:177-95.
- Macías M, Escames G, León J, Coto A, Sbihi Y, Osuna A y Acuña-Castroviejo D. Clreticulín-melatonin An unexpected relationship. *Eur. J. Biochem.* 2003; 270: 832-40.
- Maestroni GJ, Conti A y Pierpaoli W. Role of the pineal gland in immunity. III. Melatonin antagonizes the immunosuppressive effect of acute stress via an opiateergic

mechanism. *Immunology*. 1988; 63:465–9.

Maestroni GJ, Conti A y Lissoni P. Colony-stimulating activity and hematopoietic rescue from cancer chemotherapy compounds are induced by melatonin via endogenous interleukin4. *Cancer Res*. 1994; 54: 4740–43.

Maestroni GJ y Conti A. Melatonin and the immune-hematopoietic system therapeutic and adverse pharmacological correlates. *Neuroimmunomodulation*. 1996; 3:325-32.

Magri F, Lacatelli M y Balza G. Changes in endocrine circadian rhythms as markers of physiological and pathological brain aging. *Chronobiol. Int*. 1997;385-90.

Maldonado MD, Murillo-Cabezas F, Calvo JR, Lardone PJ, Tan DX, Guerrero JM y Reiter RJ. Melatonin as pharmacologic support in burn patients: a proposed solution to thermal injury-related lymphocytopenia and oxidative damage. *Crit. Care Med*. 2007a; 35:1177-85.

Maldonado MD, Murillo-Cabezas F, Terron MP, Flores LJ, Tan DX, Manchester LC y Reiter RJ. The potencial of melatonin in reducing morbidity-mortality after craniocerebral trauma. *J. Pineal Res*. 2007b; 42:1-11.

Martin JB y Reichlin S. *Clinical Neuroendocrinology*, 2ª ed. ed. W. B. Saunders Co 1987.

Martín M, Macías M, Escames G, León J y Acuña-Castroviejo D. Melatonin but not vitamins C and E maintains glutathione homeostasis in t-butyl hydroperoxide induced mitochondrial oxidative stress. *FASEB J*. 2000; 14: 1677-9.

Mayo J, Sainz R, Antoli I, Herrera F, Martin V y Rodriguez C. Melatonin regulation of antioxidant enzyme gene expression. *Cell Mol Life Sci*. 2002; 59:1706-13.

Mena-Barreto L y Colin F. Envejecimiento del sistema circadiano. En Madrid JA, Rol de Lama A. Editores. *Cronobiología básica y clínica*. Madrid; 2007; 425-446.

Minagar A, Shapshak P, Fujimura R, Ownby R, Heyes M y Eisdorfer C. The role of macrophage/microglia and astrocytes in the pathogenesis of three neurologic disorders: HIV-associated dementia, Alzheimer disease, and multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 2002; 202:13–23.

Moffoot AP, O'Carroll RE, Bennie J, Carroll S, Dick H y Ebmeier KP. Diurnal variation of mood and neuropsychological function in major depression with melancholia. *J Affect Disord* 1994; 32:257-269.

Moore RY. Organization and function of a central nervous system circadian oscillator: the suprachiasmatic hypothalamic nucleus. *Fed. Proc*. 1983; 42: 2783-9.

Morrey KM, McLachlan JA, Serkin CD y Bakouche O. Activation of human monocytes by the pineal hormone melatonin. *J. Immunol*. 1994; 153:2671–80.

Møller M y Baeres F M. The anatomy and innervation of the mammalian pineal gland. *Cell Tissue Res*. 2002; 309:139-50.

Nelson RJ y Drazen DL. Melatonin mediates seasonal changes in immune function. *Ann N Y Acad Sci*. 2000; 917:404–15.

- Nowak R y Rodway RG. Effect of intravaginal implants of melatonin on the onset of ovarian activity in adult and prepuberal ewes. *J. Reprod. Fert.* 1985; 287-93.
- Nunnari G, Nigro L, Palermo F, Leto D, Pomerantz RJ y Cacopardo B. Reduction of serum melatonin levels in HIV-1-infected individuals' parallel disease progression: correlation with serum interleukin-12 levels. *Infection.* 2003; 31:379-82.
- Okatani Y y Sagara Y. Amplification of nocturnal melatonin secretion in women with functional secondary amenorrhea, relation to endogenous estrogen concentration. *Clin.Endocrinol (Oxf)* 1994; 41:763-70.
- Pévet P, Bothorel B, Sloten H y Saboureau M. The chronobiotic properties of melatonin. *Cell. Tissue Res.* 2002; 309:183-91.
- Porterfield T, Cook M, Deary IJ y Ebmeier KP. Neuropsychological function and diurnal variation in depression. *J. Clin. Exp. Neuropsychol.* 1997; 19:906-13.
- Preslock, JP. The pineal gland. Basic implications and clinical correlations en *Endocrine Rev.* 1984; 5: 282-302.
- Puig-Domingo M, Webb S, Serrano J, Peinado M, Careay R, Rusalleda J., Reiter R. y de Leiva Alberto. Brief report: melatonin-related hypogonadotropic hypogonadism. *N. Engl. J. Med.* 1992; 5:1356-59.
- Quay, WB. Pineal canaliculi: demonstration, twenty-four-hour rhythmicity and experimental modification. *Am. J. Anat.* 1974; 139:81-94.
- Rai S y Haldar C. Pineal control of immune status and hematological changes in blood and bone marrow of male squirrels (*Funambulus pennanti*) during their reproductively active phase. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 2003; 136:319-28.
- Regodon S, Martin-Palomino P, Fernandez-Montesinos R, Herrera JL, Carrascosa-Salmoral MP, Piriz S, Vadillo S, Guerrero JM y Pozo D. The use of melatonin as a vaccine agent. *Vaccine.* 2005; 23:5321-27.
- Reiter RJ. The pineal gland and the gonadal development in male rats and hámster. *Fertil Steril.* 1968; 1009-17.
- Reiter RJ. Neuroendocrine effects of the pineal gland and of melatonin, en *Frontiers in Neuroendocrinology*, 1982; 7:287-303.
- Reiter RJ. The melatonin rhythm: both a clock and a calendar. *Experientia* 1993; 49: 654-64.
- Reiter RJ, Calvo JR, Karbownik M, Qi W y Tan DX. Melatonin and its relation to the immune system and inflammation. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2000a; 917:376-86.
- Reiter RJ, Tan DX, Osuna C y Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. *J. Biomed. Sci.* 2000b; 7: 444-58
- Reiter RJ, Tan DX, Manchester L y Qi W. Biochemical reactivity of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species. *Cell. Biochem. Biophys.* 2001; 34: 237-56.
- Reiter RJ, Tan DX y Maldonado MD. Melatonin as an antioxidant: physiology versus pharmacology. *J. Pineal. Res.* 2005; 215-6.
- Reiter RJ. Medical implications of melatonin: receptor-mediated and

- receptor-independent actions. *Adv. Med. Sci.* 2007; 52: 11-28.
- Reppert SM. Melatonin receptors, molecular biology of a new family of G-protein-couple receptors. *J. Biol. Rhythms*, 1997; 12: 528-31.
- Rojansky N, Brzezinski A y Schenker JG: Seasonality in human reproduction. Una actualización. *Hum. Reprod.* 1992; 7:735-45.
- Rouvière H y Delmas A. Anatomía Humana; Descriptiva, Topográfica y Funcional. 11 ed. Ed. Masson, 2005.
- Sáinz RM, Mayo JC, Reiter RJ, Antolin I, Esteban MM y Rodríguez C. Melatonin regulates glucocorticoid receptor: an answer to its antiapoptotic action in thymus. *FASEB J.* 1999; 13:1547-56.
- Silman. RE, Leone, RM y Hooper RJL. Melatonin, the pineal gland and human puberty *Nature.* 1979; 282: 301-3.
- Stehle JH, Saade A, Rawashdeh O, Ackermann K, Jilg A, Sebestény T y Maronde E. A survey of molecular details in the human pineal gland in the light of phylogeny, structure, function and chronobiological diseases. *J. Pineal Res.*, 2011; 51:17-43.
- Szczepanik M. Melatonin and its influence on immune system. *J. Physiol. Pharmacol.* 2007; 115-24.
- Tan DX, Manchester L, Reiter RJ, Qi W, Karbownik M y Calvo JR. Significance of melatonin in antioxidative defense system: reactions and products. *Biol. Signals. Recept.* 2000; 9: 137-59.
- Tan DX, Manchester LC, Burkhardt S, Sainz RM, Mayo JC y Kohen R. N₁-acetyl-N₂-formyl-5-methoxykynuramine, a biogenic amine and melatonin metabolite, functions as a potent antioxidant. *FASEB J.* 2001; 15: 2294-6.
- Tan DX, Hardeland R, Manchester LC, Poeggeler B, López-Burillo S, Sáinz RM, Mayo JC, León J y Reiter RJ. Mechanistic and comparative studies of melatonin and classic antioxidants in terms of their interactions with the ABTS cation radical. *J. Pineal. Res.* 2003; 34: 249-59.
- Tan D, Manchester L, Terron M, Flores L y Reiter R. One molecule, many derivatives: a never-ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species? *J Pineal Res.* 2007; 42: 28-42.
- Tekbas OF, Ogur R, Korkmaz A, Kilic A y Reiter RJ. Melatonin as an antibiotic: new insights into the actions of this ubiquitous molecule. *J. Pineal Res.* 2008; 44: 222-6.
- Tomás-Zapico C y Coto-Montes A. A proposed mechanism to explain the simulatory effect of melatonin on antioxidative enzymes. *J. Pineal. Res.* 2005; 99-104.
- Vanecek J. Cellular mechanisms of melatonin action. *Physiol. Rev.* 1998; 78: 687-721.
- Vaughan G N. Melatonin in humans. En: Reiter, R. J. (ed.), *Pineal research review.* vol. 2; Nueva York: 1984; 149-201.
- Velkov ZA, Velkov YZ, Galunska BT, Paskalev DN y Tadjer AV. Melatonin: quantum-chemical and biochemical investigation of antioxidant activity. *Eur. J. Med. Chem.* 2008.
- Voordouw BC, Euser R, Verdonk RE, Alberda BT, De Jong FH, Drogendijk AC, Fauser BC y Cohen M. Melatonin and melatoni-progestin combinations

alter pituitary-ovarian function in women and can inhibit ovulation. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 1992; 74:108-17.

Waterhouse J y DeCoursey P. The relevance of circadian rhythms for human welfare. En: Dunlap J, Loros J y DeCoursey P (eds.). *Chronobiology biological timekeeping*. Massachusetts: Sinauer Associates, Inc. Publishers; 2004; 325-56.

Wehr TA, Jacobse FM, Sack DA, Arendt J, Tamarkin L y Rosenthal NE. Phototherapy of seasonal affective disorder. Time of day and suppression of melatonin are not critical for antidepressant effects. *Arch. Gen. Psychiatry* . 1986; 43: 870-5.

Wehr TA. Photoperiodism in humans and other primates, evidence and implications. *J. Biol. Rhythms*. 2001; 16:348-64.

Witt-Enderby PA, Radio NM, Doctor JS y Davis VL. Therapeutic treatments potentially mediated by melatonin receptors: potential clinical uses in the prevention of osteoporosis, cancer and as an adjuvant therapy. *J. Pineal Res*. 2006; 41: 297-305.

Wurtman RJ y Moskowitz MA. The pineal gland, en *N. Engl. J. Med*. 1997; 296:1329-33.

Wyatt S, Winters K y Dubbert P. Overweight and obesity: prevalence, consequences, and causes of a growing public health problem. *J. Med. Sci*. 2006; 331: 166-74.

Yu Q, Miller SC y Osmond DG. Melatonin inhibits apoptosis during early B cell development in mouse bone marrow. *J Pineal Res*. 2000; 29:86–93.

Zhang H, Squadrito GL y Pryor WA. The reaction of melatonin with

peroxynitrite: formation of melatonin radical cation and absence of stable nitrated products. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 1998; 251: 83-7.

Zhang S, Li W, Gao Q y Wei T. Effect of melatonin on the generation of nitric oxide in murine macrophages. *Eur. J. Pharmacol*. 2004; 501:25–30.