



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química

“La Melatonina como antioxidante”
Trabajo Monográfico de actualización

Que para obtener el título de:

Química Farmacéutica Bióloga

P R E S E N T A

ROSA MARÍA BARRÓN RAMOS



México D.F

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

	<u>Índice</u>	Páginas
Abreviaturas.....		I
Introducción.....		IV
I. ANTECEDENTES		
1.1 Glándula pineal.....		1
1.1.1 Antecedentes Históricos.....		1
1.1.2 Filogenia.....		2
1.1.3 Anatomía de la Glándula Pineal en mamíferos.....		4
1.2 Melatonina.....		8
1.2.1 Síntesis.....		8
1.2.2 Metabolismo.....		14
1.2.3 Participación de la Melatonina en el envejecimiento.....		16
1.2.4 Receptores de Melatonina.....		17
1.2.5 Propiedades Fisiológicas.....		19
1.2.6 Propiedades Farmacológicas.....		23
1.3 Radicales libres en Sistemas Biológicos.....		25
1.3.1 Formación <i>in vivo</i> de las Especies Reactivas más importantes.....		26
1.3.1.1 Especies reactivas con Oxígeno.....		26
1.3.1.2 Especies reactivas con Nitrógeno.....		27
1.3.2 Estrés Oxidativo.....		28
1.4 Los Antioxidantes en Sistemas Biológicos.....		30
1.5 Actividad Antioxidante de la Melatonina.....		36
II. Objetivos		39
III. Metodología.....		40
IV. Resultados.....		41
V. Conclusiones.....		45
VI. Referencias.....		46



Índice de Figuras

Figura 1. Representación esquemática de la glándula pineal realizada en el siglo XVII por el filósofo René Descartes.....	1
Figura 2. Cortes sagitales de la glándula pineal tanto en animales superiores como en inferiores en los que se muestran relaciones de la glándula pineal con otras estructuras.....	3
Figura 3. Representación esquemática del pinealocito.....	5
Figura 4. Imágenes de las diferentes células gliales.	5
Figura 5. Imagen que muestra a un astrocito.....	6
Figura 6. La glándula pineal en humanos es una estructura situada por encima y por detrás del tercer ventrículo cerebral... ..	7
Figura 7. Estructura de la Melatonina.....	8
Figura 8. Derivados metilados de la síntesis de MEL a partir de TRP.....	10
Figura 9. Duración de la respuesta a la secreción de la hormona MEL durante el fotoperiodo verano-invierno.....	11
Figura 10. Concentraciones de metabolitos y variación de sus actividades enzimáticas conforme el transcurso del día, involucradas en la síntesis de MEL.....	12
Figura 11. Diagrama del mecanismo de síntesis de MEL.....	13
Figura 12. Reducción de la concentración de MEL con respecto a la edad.....	14
Figura 13. Metabolismo de la MEL.....	15
Figura 14. Modelo de receptor MT ₂	19
Figura 15. La vía nerviosa por la cual el efecto de la luz sobre la retina se transmite al GSCS.....	21
Figura 16. Distribución de los AOX a nivel celular.....	32
Figura 17. Esquema de los efectos de la melatonina en la mitocondria.....	38
Figura 18. Estructura base de la melatonina.....	42



Índice de Tablas

Tabla 1. Procesos y funciones biológicas que la melatonina puede producir y mecanismo de acción propuesto en humanos.....	24
Tabla 2. Principales tipos de especies reactivas presentes en sistemas Biológicos.....	26
Tabla 3. Principales factores que desencadenan el estrés oxidativo en humanos.....	29
Tabla 4. Ejemplos de AOX enzimáticos y no enzimáticos.....	32
Tabla 5. Algunos antioxidantes y sus funciones destruyen al H ₂ O ₂ , principal fuente de los tóxicos radicales hidroxilos.....	33
Tabla 6. Análogos de melatonina.....	42



Abreviaturas

A = adrenalina

aa = amino ácido

AA-NAT = N-acetiltransferasa

ADN = ácido desoxiribonucleico

AFMK = N1-acetil-N2-formil-5-metoxiquinuramina

AMK = N1-acetil-5-metoxiquinuamina

AMPc = adenosil monofosfato

AOX = antioxidante

ATP = adenosin trifosfato

AVT = arginina-vastocaina

BHE = barrera hemato encefálica

CAE = capacidad antioxidante equivalente

CI = concentración de inhibición

Cu = cobre

DMSO = dimetilsulfóxido

DPPH = 1,1-defenil-2-picril-hidrazilo

ERN = especies reactivas de nitrógeno

ERO = especies reactivas de oxígeno

Fe = hierro

G6PD = glucosa-6-fosfato deshidrogenada

GLA = ácido gama linoléico



GLUT = glutatión

Gly = glisina

GP = glándula pineal

GPx = glutatión peroxidasa

GRd = glutatión reductasa

GSH = glutatión reducido

GSSG = glutatión oxidado

GSCS = ganglio simpático cervical superior

GTP = guanidil trifosfato

HFS = hormona folículo estimulante

HIOMT = hidroxindol *O*-metiltransferasa

HL = hormona leutinizante

H₂O₂ = peróxido de hidrógeno

LCR = líquido cefaloraquídeo

LOO· = radical peroxilo

LPS = lipopolisacárido

MEL = melatonina

NA = noradrenalina

N-Ac-5-HT = N-acetil-5-hidroxitriptina

NADPH = nicotinamida-adenina dinucleotido fosfato (reducido)

NAS = N-acetilserotonina

NAT = N-acetiltransferasa

NHPV = núcleo hipotalámico para ventricular



NMDA = N-metildietil aspartato

NO· = óxido nítrico

NSQ = núcleo supra quiasmático

O₂^{·-} = anión superóxido

·OH = radical hidroxilo

ONOO⁻ = peroxinitritos

POMC = propiomelanocorticoides

RL = radicales libres

SAM = S-adenosilmetionina

SNC = sistema nervioso central

SOD = superóxido dismutasa

TRP = triptofano

UV = ultravioleta

5-HT = 5-hidroxitriptamina

5-HTP = 5 hidroxitriptófano

5-MIAA = ac-5-metoxi-indolacético

5-MTL = 5-metoxitriptofol



Introducción

La Melatonina (MEL) fue originalmente descubierta como una molécula fotosensible de la piel de ranas y en los monocitos de los peces⁴⁶. Posteriormente, se encontró que también estaba presente en organismos unicelulares, plantas, hongos y animales vertebrados e invertebrados³³. En la mayoría de los vertebrados incluyendo al hombre, la MEL se sintetiza primordialmente en la glándula pineal (GP), además, puede sintetizarse en otras áreas del organismo como la retina, la médula, el tracto gastrointestinal, la piel, las plaquetas y los linfocitos. La producción de esta hormona se lleva a cabo en la fase de oscuridad, y su supresión se lleva a cabo por la presencia de la luz, (ritmo Circadiano). Interviene de manera importante en ciclos temporales⁷⁸.

La MEL es utilizada para el tratamiento o prevención de algunos males como: Alzheimer, cáncer, ansiedad, diabetes, “Jet-Lag” (alteración circadiana producida por el cambio de uso horario), apoptosis celular, arteroesclerosis, obesidad, actividad antigonadotrópica, como termorregulador, depresión, epilepsia⁷⁴ y, contra el estrés oxidativo por su propiedad antioxidante.

Los antioxidantes son un grupo de vitaminas, minerales y enzimas que protegen nuestro cuerpo de la formación de radicales libres.

La MEL puede considerarse una importante protectora contra el estrés oxidativo ya que interactúa con especies reactivas de oxígeno y nitrógeno con una gran facilidad de intercambio de electrones.

La electrodonación de la MEL da los precursores de los metabolitos protectores N1-acetil-N2-formil-5-metoxiquinuramina (AFMK), y N1-acetil-5-metoxiquinuamina (AMK) que protegerán al organismo de partículas reactivas generadas por la respiración y reducen la formación de aniones superóxido.



Antecedentes

1.1 Glándula pineal

1.1.1 ANTECEDENTES HISTÓRICOS.

La Glándula Pineal (GP) ha sido descrita desde la antigüedad por los griegos que hablan de una válvula reguladora del flujo humoral entre el cerebro y los ventrículos; para los hindús, la GP es el órgano de la clarividencia; mientras que el filósofo francés Descartes, quien indicó que controlaba el flujo del “espíritu animal” por unos fluidos que emanaban de ella, la consideró como la “sede o asiento del alma humana”⁷³ (Figura 1):

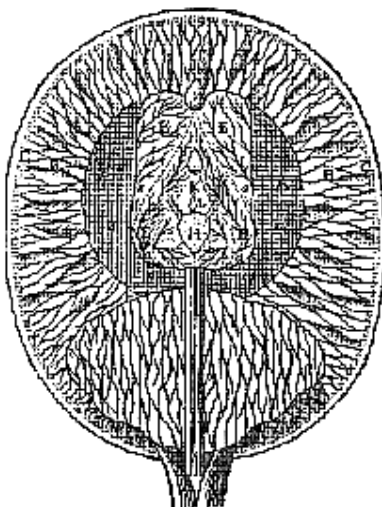


Figura 1. Representación esquemática de la GP realizada en el siglo XVII por el filósofo René Descartes^{IX}

Durante todo el siglo XIX los estudios avanzaron también en este campo. Ahlborn (1884) correlacionó a la GP con el órgano parietal (tercer ojo) de algunos pequeños vertebrados y con las estructuras de los ojos laterales. Gutzeit (1896) asocia por primera vez la existencia de un tumor pineal a un síndrome de desarrollo sexual precoz. Otto Heubner (1898)



publicó el caso clínico de un niño que presentaba pubertad precoz, acompañada de la existencia de un tumor pineal. En los cincuenta años siguientes, fueron observados otros casos similares de niños con tumor de la GP y desarrollo sexual precoz⁷³.

En 1905, Studnicka comprobó que el órgano fotosensorial de algunos pequeños vertebrados evolucionó hasta llegar a ser la GP secretora de diversas sustancias en mamíferos³⁰.

Holgreth apuntó que las células de la GP de un elasmobranquio eran de naturaleza sensorial, puesto que sus pinealocitos se asemejaban a las células sensoriales de la retina³⁰. Como algunos reptiles presentan un “tercer ojo” muy prominente, la GP de los mamíferos fue considerada como un vestigio de este órgano visual primitivo. La GP humana puede calcificarse a edades tempranas, por lo que se pensó que era un órgano vestigial, y por ello sin importancia a nivel fisiológico. Sin embargo, otros estudios y los ya comentados de Gutzeit y Heubner, mostraron las posibles conexiones entre la GP y las funciones reproductoras y describieron algunas correlaciones entre hechos clínicos y disfunciones pineales⁶.

1.1.2 FILOGENIA

En el caso de los animales inferiores, la GP es de tipo sacular con paredes internas profundidas continuamente por el líquido cefalorraquídeo (LCR); el sáculo se abre directamente al III ventrículo. En este tipo de animales, también existe un órgano parapineal, con células receptoras similares a los fotorreceptores retinianos⁶⁹, por un lado.



Por otro lado, la GP sufre amplias transformaciones: de ser sacular y con elementos nerviosos en anfibios se transforma en una glándula secretora en mamíferos, perdiendo además, su característica sacular y el contacto directo con el LCR. También en vertebrados inferiores se mostró la existencia de una inervación desde la comisura y núcleos habenuares hasta la GP¹⁰⁷ (Figura 2).

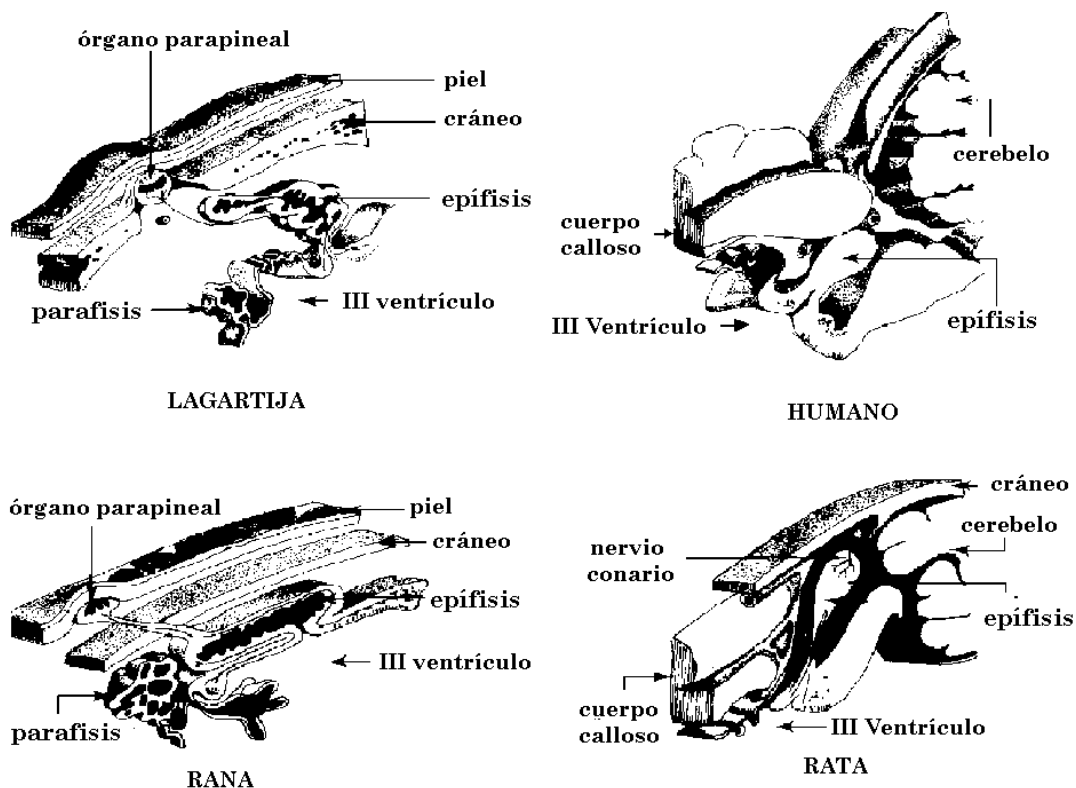


Figura 2. Cortes sagitales de la glándula pineal tanto en animales superiores como en inferiores en los que se muestran relaciones de la GP con otras estructuras^{VII}.

Filogenéticamente la GP desarrolló distintas funciones, por ejemplo: en algas unicelulares se produce MEL durante la fase de oscuridad, mientras que en peces, anfibios y reptiles funciona como receptor de luz debido a que la GP posee terminaciones fotorreceptoras semejantes a los conos de la retina, excitadas por la luz y capaces de discriminar diferentes longitudes de onda, que dan así origen al estímulo nervioso^{23,36,69}, en mamíferos tiene



estructura típicamente endocrina, no se hallan elementos fotorreceptores, pero se observan rudimentos de estos en serpientes y aves en las que predominan los elementos endocrinos^{36,69,84}. Su principal función en todas las especies estudiadas es transformar la información concerniente a la duración de los ciclos de luz y oscuridad en mecanismos reguladores en el organismo, más aún los denominados ritmos biológicos, los cuales pueden alcanzar una duración de horas (circahorarios), días (circadianos), o meses (circamensuales)²³, por ejemplo el sueño, y la reproducción.

1.1.3 ANATOMÍA DE LA GLÁNDULA PINEAL EN MAMÍFEROS

La glándula pineal (GP) es una estructura que se localiza en la parte superior del cerebro que desempeña un papel esencial en el control de los ritmos circadianos de los procesos biológicos. La GP, descrita en 1918 por Nils Holmgren, en el humano es un órgano en forma de cono cuyo peso oscila entre los 100 y 180 mg, está localizada en la parte media del cerebro, por encima y detrás del tercer ventrículo cerebral¹⁰⁶. Ocupa la depresión localizada entre los folículos superiores y el mesencéfalo.

El tipo celular característico de la GP de mamíferos es el pinealocito, célula epifisaria o célula principal⁹⁹ (Figura 3).

Los pinealocitos derivan del foro endimario del epítalamo y pueden distinguirse tanto células claras como células oscuras. Las células oscuras contienen gránulos de un pigmento de naturaleza desconocida, así como depósitos de glucógeno cuyo significado fisiológico tampoco está aclarado³⁰. Esta distinción se basa únicamente en la diferencia de densidad electrónica del citoplasma, lo que permite clasificarlos en cromófilos y cromófobos⁷¹.



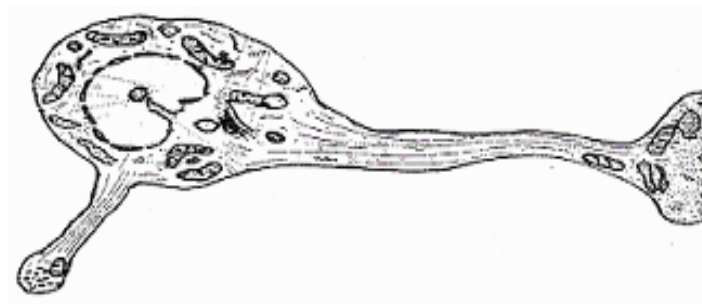


Figura 3. Representación esquemática del pinealocito. En este tipo de células se lleva a cabo la síntesis de la MEL a partir del aminoácido triptofano^V.

El resto de la masa glandular está compuesta por elementos gliales, fibroblastos y astrocitos (Figuras 4 y 5).

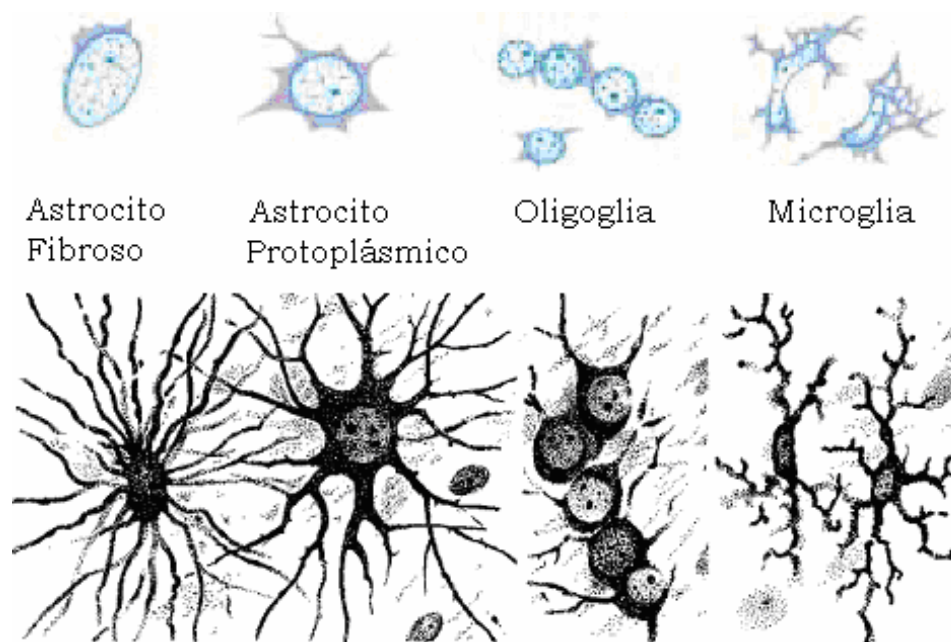


Figura 4. Imágenes de las diferentes células gliales. Arriba tinción Nissl. A bajo impregnación con plata^{IV}.



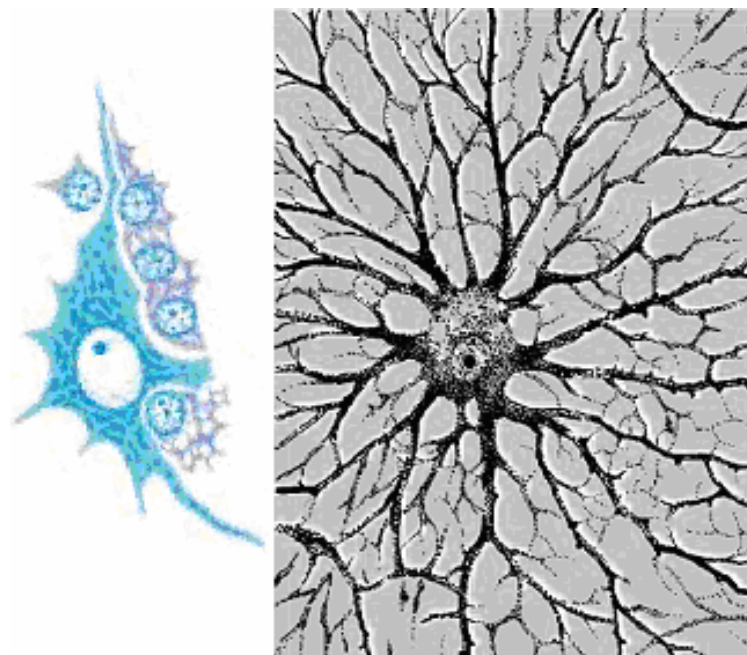


Figura 5. Imagen que muestra a un astrocito^{IV}.

En la rata, la GP¹⁰⁷ es una estructura epitalámica de forma esferoidal, con diámetro no mayor a 2mm y un peso hasta 1mg. La glándula reside en la parte más posterior del cerebro y en la línea media, por debajo de la confluencia del seno venoso sagital con los senos venosos laterales, descansando sobre los folículos superiores y oponiéndose a la tienda del cerebelo.

Aunque tiene conexiones con el cerebro, la GP se encuentra fuera de la barrera hemato encefálica (BHE) y es inervada principalmente por los nervios simpáticos que provienen de los GSCS¹⁰⁶ (Figura 6).



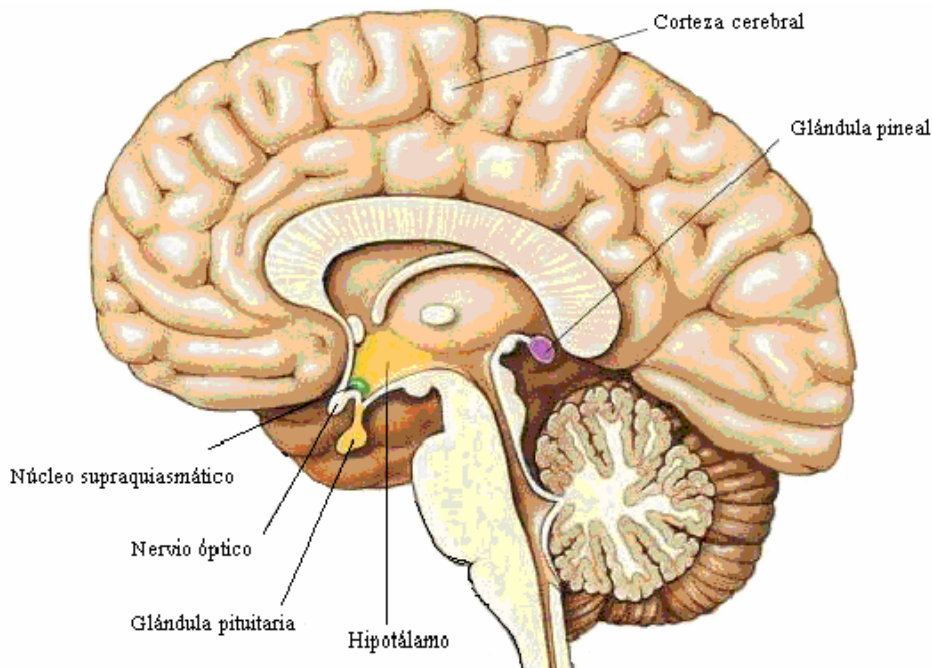


Figura 6. La GP en humanos es una estructura situada por encima y por detrás del tercer ventrículo cerebral^{XI}.

Las acciones producidas por la GP son mediadas por hormonas, que desde un punto de vista químico, son indoles o péptidos. Todos los indoles pineales se derivan del amino ácido (aa) triptófano (TRP).

La hormona indólica más importante tanto por su producción como sus funciones, es la MEL (N-acetil-5-metoxriptamina), esta hormona fue reconocida inicialmente por McCord y Allen en 1917⁸⁰, pero no fue sino hasta 1958 que Lerner y cols (1960)⁴⁶, la aislaron de la GP bovina (Figura 7).

El nombre de esta hormona en 1960 fue asignado por Lerner y cols.⁴⁶, debido a que provoca una aclaración de la piel en los renacuajos, implicando a los melanóforos y de la existencia de una relación con la melanina cutánea⁴⁶. Se trata de un cristal orgánico, con un punto de fusión entre 116-118 °C, poco soluble en agua y muy soluble en etanol⁸⁷.



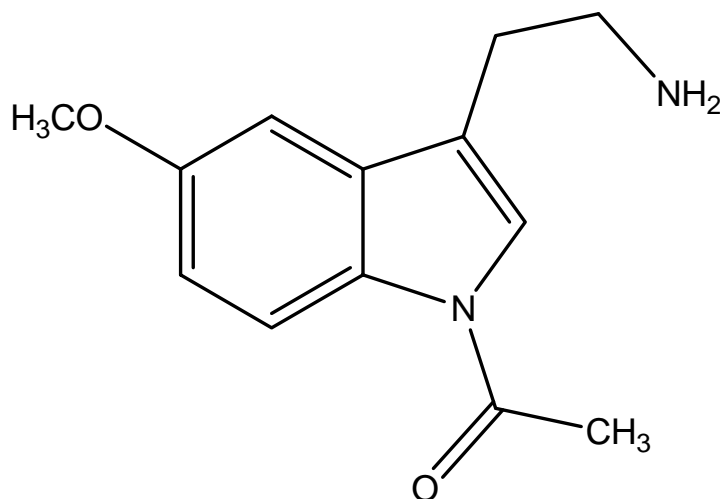


Figura 7. Estructura de la Melatonina^{XII}.

La MEL pertenece a un grupo de compuestos biológicamente activos y denominados 5-metoxi-indoles (productos de secreción de la GP en vertebrados, incluyendo al hombre), entre estos compuestos se encuentran los 5-metoxi-triptofenoles y, los 5- metoxi-indoles (asociados al ácido acético), todos ellos con actividad fisiológica importante y proveniente de la misma vía biosintética a partir del TRP⁸⁰.

1.2 Melatonina

1.2.1 SÍNTESIS

La síntesis de la MEL, se inicia con la captura del aa TRP por los pinealocitos, una vez en el retículo endoplásmico, se produce una hidroxilación del aa TRP para transformarlo en 5-hidroxitriptofano (5-HTP). Esta reacción ocurre en presencia de la enzima TRP hidroxilasa; y requiere de oxígeno, Fe^{2+} y pteridina reducida. Posteriormente, el 5-HTP es descarboxilado y transformado en 5-hidroxitriptamina (5-HT), es decir, en serotonina, por acción de la 5-HT



descarboxilasa. Una vez sintetizada, la 5-HT es transformada en N-acetil-5-HT (N-Ac-5-HT) o N-acetilserotonina, por acción de la enzima N-acetiltransferasa (NAT). Este último compuesto carece de actividad biológica, y su importancia fisiológica consiste en ser el precursor de la MEL. Finalmente otra enzima la hidroxindol-o-metiltransferasa (HIOMT), al transferir un grupo metilo, donado por la S-adenosilmetionina (SAM), en la posición orto, para dar como resultado el 5-hidroxi-indol-ácido acético y dar como productos finales a la N-acetil- 5-metoxi -triptamina (MEL); el 5-metoxitriptofol (5-MTL) o el ac-5-metoxi-indolacético (5-MIAA), dependiendo del sustrato sobre el que actúe la enzima, todos estos compuestos poseen actividad hormonal⁸⁰ (Figura 8).

Por otra parte, la velocidad de la síntesis de MEL está asociada al ritmo Circadiano (ciclo de luz-oscuridad) teniendo como máxima actividad biosintética a media noche y los niveles más bajos en el transcurso del día⁷⁸. También, los ciclos estacionales afectan la síntesis de MEL, los valores más altos se presentan en el otoño y el invierno comparados con la primavera y el verano (Figura 9).

La luz constante suprime la síntesis de MEL, pero la oscuridad continua no provoca una secreción sin fin de dicha hormona, sino que sus niveles fluctúan siguiendo el ritmo de 24 horas^{44,80} (Figura 10).



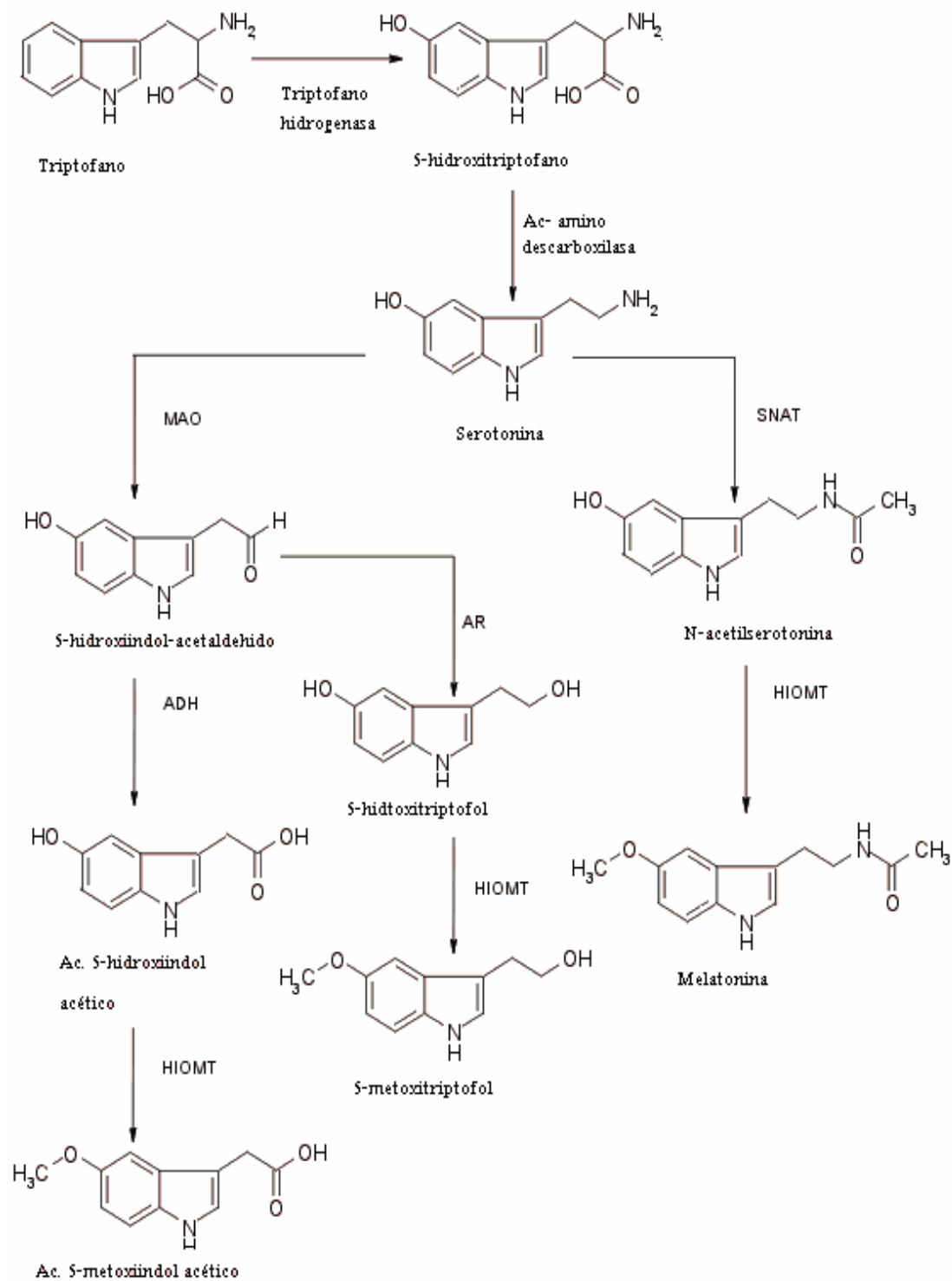


Figura 8. Derivados metilados de la síntesis de MEL a partir de TRP¹.



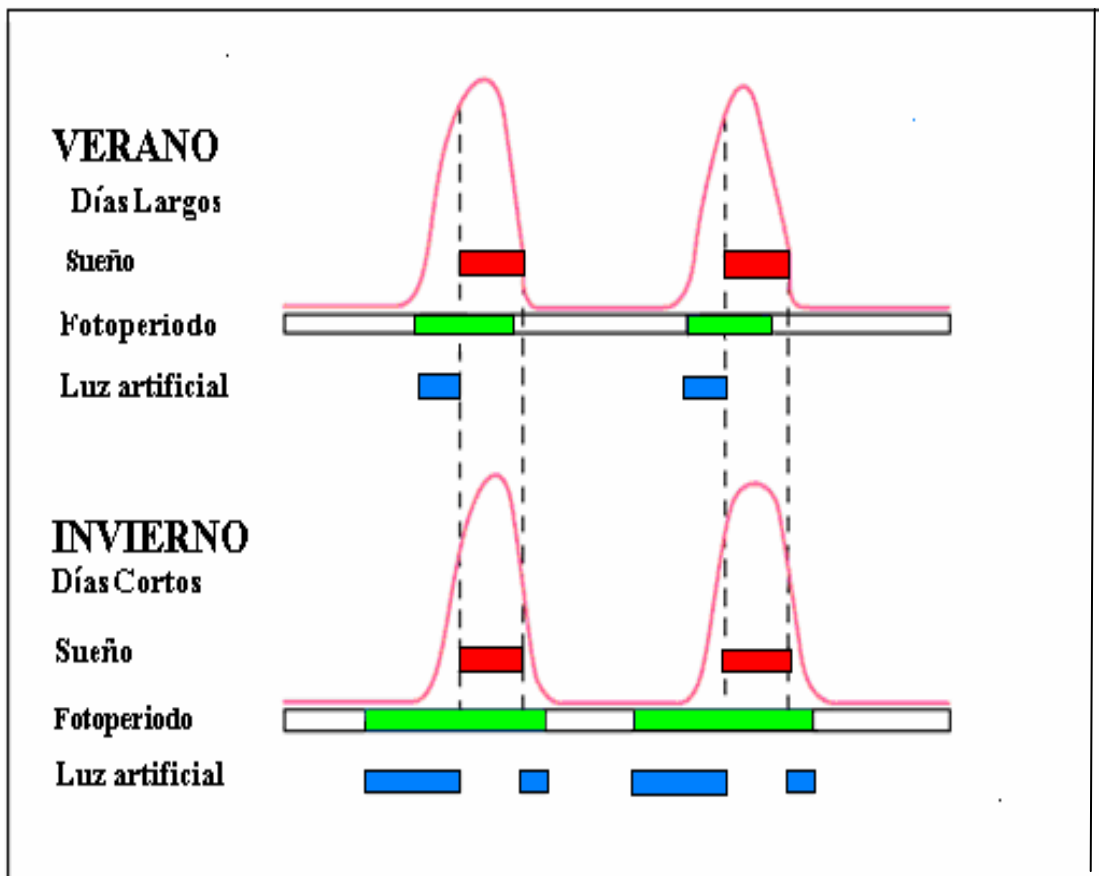


Figura 9. Duración de la respuesta a la secreción de la hormona MEL durante el fotoperiodo verano-invierno: periodos de luz, verde; de oscuridad, rojo y de sueño, azul. Observación: la línea que corresponde a la luz artificial (azul) presenta pocos cambios con respecto al fotoperiodo de total oscuridad durante el invierno¹.

Conjuntamente con esto, al comienzo de la noche hay un incremento en la liberación de noradrenalina (NA) que activa los β -adrenoreceptores de la GP para aumentar la formación de adenosil monofosfato (AMPC) y con la activación de los α -adrenoreceptores se amplifica la respuesta. Este segundo mensajero provoca la activación de la 5-HT N-acetiltransferasa que va a incrementar la síntesis de MEL^{44,80}. (Figura 11)



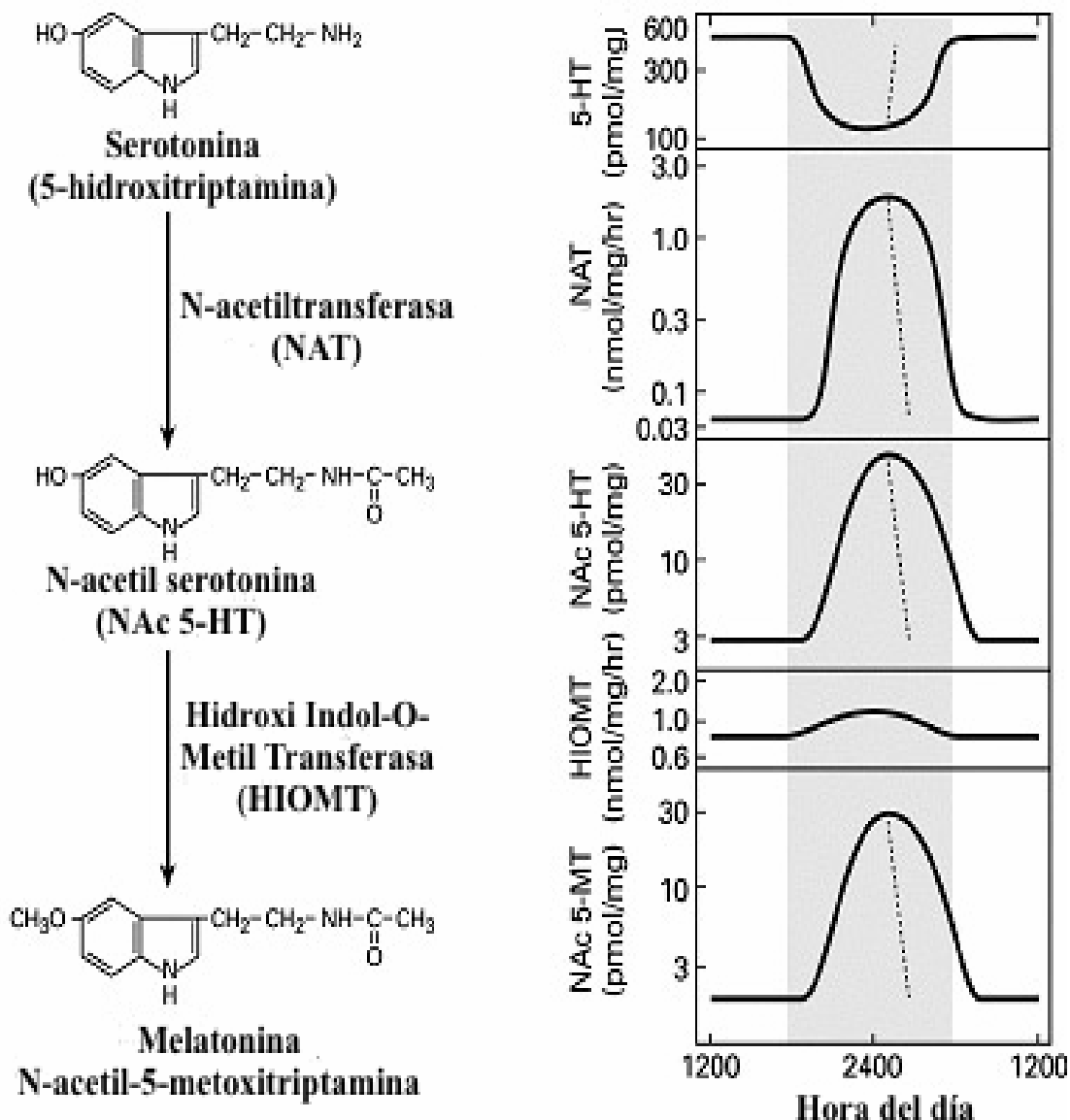


Figura 10. Concentraciones de metabolitos y variación de sus actividades enzimáticas conforme el transcurso del día, involucradas en la síntesis de MEL^{XI}.

También, existen algunas hormonas, como los estrógenos, que suprimen la síntesis de MEL, mientras que otras, como la adrenalina (A) (liberada por el estrés) la incrementan^{10,39}. Otro factor importante en la síntesis de MEL es la edad, en el humano, los niveles plasmáticos de MEL se elevan desde el nacimiento hasta la pubertad, después de la cuál empieza a



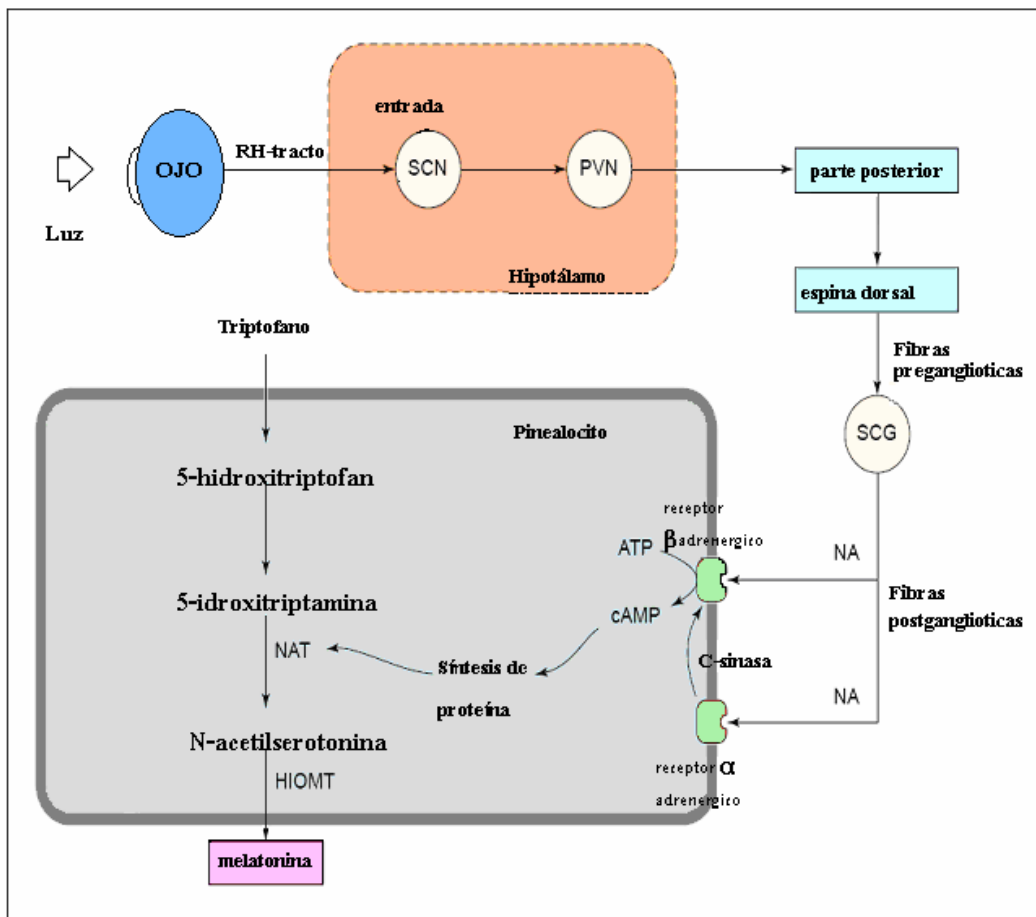


Figura 11. Diagrama del mecanismo de síntesis de MEL^{VII}.

El mecanismo inicia en el núcleo supraquiasmático (NSQ) cuando la luz entra vía el tracto retino-hipotalámico (RH tracto). La señal pasa vía el núcleo paraventricular (PVN), parte posterior, espina dorsal, ganglios superiores cervicales (SCG), hasta los receptores piales noradrenérgicos (NA). La SER (N-acetil-transferasa) (NAT), es en la mayoría de los casos es la enzima que limita la síntesis de la MEL.

descender de manera gradual, a medida que avanza la edad, el contenido de MEL en el suero disminuye.^{14,105} El envejecimiento implica una disminución en la resistencia celular y un aumento de la fragilidad de ésta, que con el tiempo se manifiesta en determinadas enfermedades que pueden encontrarse de modo más común durante este periodo de vida, como son: Alzheimer, cáncer, ansiedad, diabetes, apoptosis celular, arteroesclerosis, obesidad, actividad antigonadotrópica.



Basándose en muy diversos estudios puede especularse que la caída en la producción de MEL con la edad podría estar relacionada con el envejecimiento y el inicio de las enfermedades de la vejez ^{14,105}, tales como: Alzheimer, cáncer, ansiedad, diabetes, apoptosis celular, arteroesclerosis, obesidad, actividad antigonadotrópica. (Figura 12).

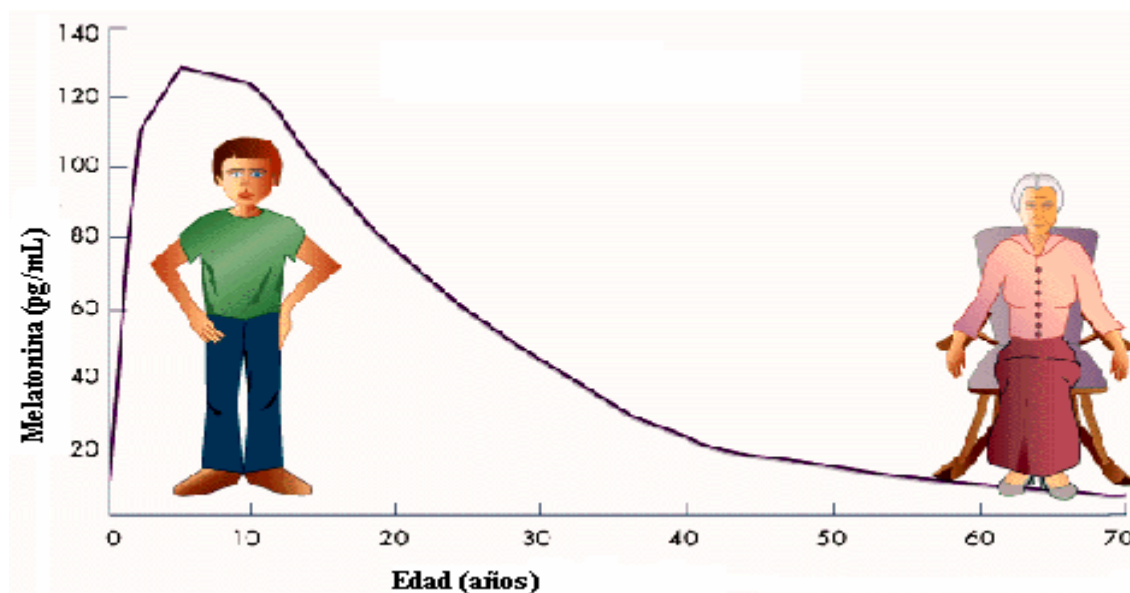


Figura 12. Reducción de la concentración de MEL con respecto a la edad^{II}.

1.2.2 METABOLISMO

Respecto a su metabolismo, la MEL endógena se libera, por difusión simple, al torrente sanguíneo conforme es sintetizada. Del 60-70% de la MEL liberada, se une a la albúmina, del 30-40% restante se inactiva por conversión hepática a 6-hidroximelatonina, la cual se excreta en forma de compuestos sulfatados (75%) o glucurónidos (5%) en la orina. Además, aproximadamente el 15% de la MEL circulante, en el cerebro, es transformada a compuestos derivados de la quinurenamida y únicamente el 0.5% de la MEL libre es eliminada intacta vía renal⁹⁶. Por su parte, la MEL exógena se absorbe rápidamente, tras su administración vía oral,



de 30 min-2 hrs alcanza concentraciones pico. Las tabletas de liberación sostenida presentan concentraciones pico menores a las obtenidas con formulaciones convencionales y tardan más tiempo en presentarse (4 hrs después de la administración). La MEL administrada vía oral, tiene una vida media de 30-50 min y, la mayor parte de ella, es excretada vía renal siguiendo un patrón similar al presentado por la hormona endógena⁴ (Figura 13).

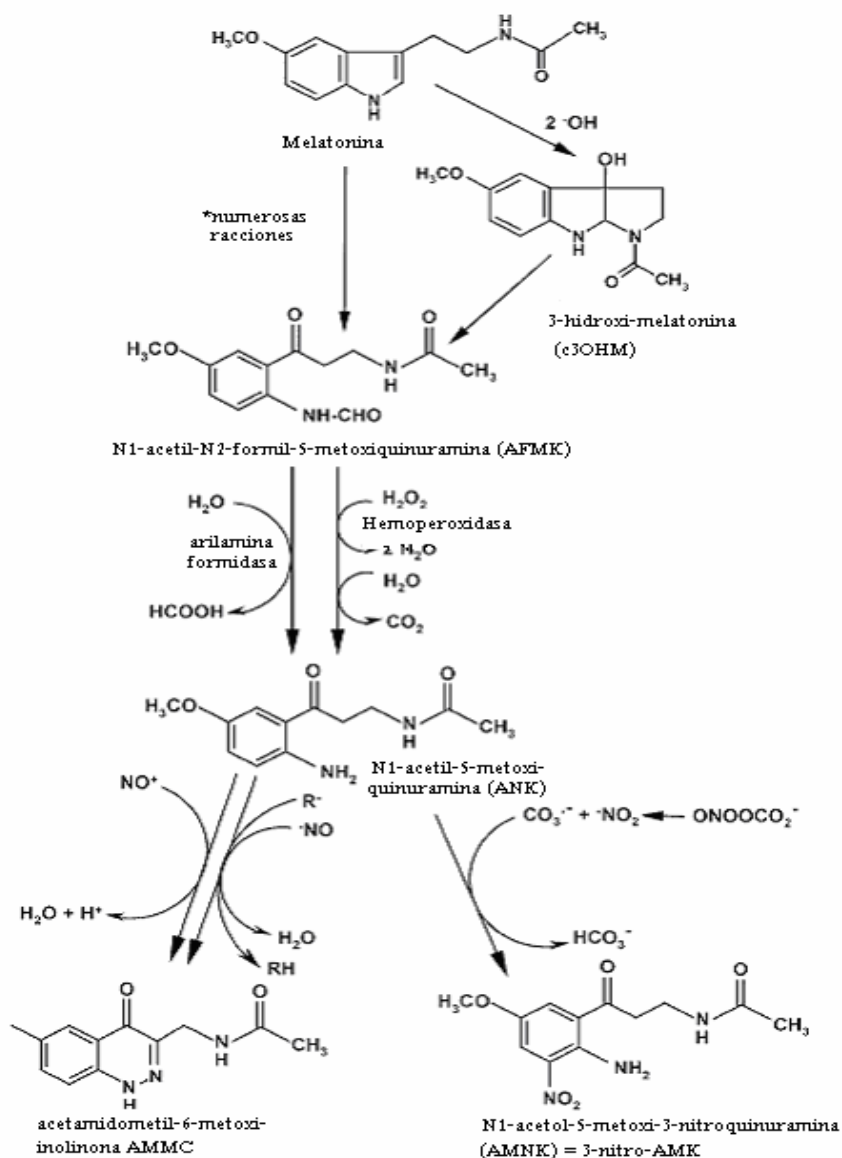


Figura 13 Metabolismo de la MEL^X



1.2.3 PARTICIPACIÓN DE LA MEL EN EL ENVEJECIMIENTO

La teoría principal del envejecimiento se basa en la suma del daño por radicales libres (RL) durante la senectud^{18,70}. A su vez, con la edad, también se deteriora la función pineal, disminuyendo la producción de MEL^{70,86}.

Por otra parte, la MEL mantiene la longevidad mediante la función inmune y previniendo el deterioro de la fisiología tiroidea que aparece con la edad. Se ha reportado que la administración de MEL en el agua de bebida a ratones, aumenta significativamente su supervivencia y los mantiene “jóvenes” por más tiempo⁶⁷.

Los experimentos con animales denotan que la MEL tiene efectos benéficos sobre ciertos aspectos del envejecimiento y las enfermedades asociadas a éste. Podrían destacarse con especial interés los posibles efectos de la MEL sobre el SNC, ya que carece de toxicidad y posee afinidad lipofílica por lo que atraviesa muy fácilmente la BHE, así la MEL puede ser una molécula efectiva e importante en el sistema de defensa antioxidante en el cerebro^{75,80}. El que la producción disminuida de MEL, asociada con la edad, sea o no responsable de alguno de los síntomas del envejecimiento está aún pendiente de demostración, aunque se han referido mejorías importantes en la calidad de vida de las personas de edad avanzada, tras la administración exógena de esta hormona^{75,105}.

La MEL es un poderoso antioxidante (AOX), por tanto, protege las células y los tejidos frente al daño causado por RL^{42,77}. Respecto a la producción circadiana de la MEL y esta relación con el daño de los mismos se podría poner en duda si la MEL, siendo tan buen depurador de RL, debería presentar niveles elevados durante las 24 horas y no mostrar únicamente un pico de expresión en la oscuridad, pero esto puede quedar claro con la siguiente



idea: debido a que tanto la luz ultravioleta del sol, como la actividad metabólica generan un gran número de RL en la piel, al menos en animales diurnos, durante la actividad diurna se produce una alta concentración de ellos, pero los RL tienen también funciones necesarias dentro de la célula. Por tanto, en condiciones normales, los bajos niveles diurnos de MEL pueden ser suficientes para lograr una protección celular en conjunción con otros AOX, es decir, unos altos niveles de MEL por el día podrían alterar esas funciones necesarias de los RL⁸⁶.

Inicialmente, se creía que la MEL era producida exclusivamente por la GP, actualmente, se sabe que se produce por otras estructuras que tienen toda la maquinaria enzimática necesaria para su síntesis, y que curiosamente, son tejidos en los cuales los RL se encuentran en abundancia tales como la retina, el tracto gastrointestinal, los pulmones, hígado, piel, el cerebro y además por los linfocitos. Se cree también, que los tejidos pueden sintetizar esta hormona, para su uso en los mecanismos de protección celular local²⁰. Así, algunos investigadores han localizado sitios de unión para la MEL, que parecen ser específicos, saturables y reversibles, aunque con una distribución muy diferente según la especie de que se trate¹⁰².

1.2.4 RECEPTORES DE MEL

El uso de los radioligandos [³H]-melatonina y 2-[¹²⁵I]-iodomelatonina han sido de gran ayuda para localizar y caracterizar los sitios de unión a MEL, con propiedades farmacológicas distintas y bien definidas. La primera clasificación de supuestos receptores a MEL fue MT₁ y MT₂^{10,97} basadas en diferencias farmacológicas y cinéticas de enlace con 2-[¹²⁵I]-



iodomelatonina, lo cual se debe al grado de afinidad que estos presentan por la iodomelatonina. Además, se han propuesto mecanismos de acción diferentes para ambos tipos de receptores, de ahí que los receptores MT_1 se caractericen por pertenecer a la familia de receptores acoplados a proteínas G y que son capaces de inhibir la adenilato ciclasa, se han relacionado con los ritmos circadianos y la reproducción, en cambio, los receptores MT_2 , pertenecen a los receptores que activan la hidrólisis de fosfoinositol vía proteínas G, sin embargo, su localización presenta diversas dificultades y, por lo tanto es difícil de predecir sus funciones fisiológicas, en ambos casos, estos receptores son dependientes de guanidil trifosfato (GTP), el cual mediaría sus posibles acciones sobre las enzimas como la adenilato ciclasa y la fosfolipasa^{10,39}. Además, existe un receptor MT_3 que es una clonación y dos subtipos de receptores transmembranales a MEL, MT_1 y MT_2 , estos últimos acoplados a proteínas G_i/o ⁷⁵. Utilizando receptores recombinantes, se ha observado que MT_1 , actúa por medio de proteínas G inhibiendo a la adenilato ciclasa y, por otra parte, produce activación de la fosfolipasa C. Mientras que MT_2 , además de la inhibición de la adenilato ciclasa inhibe a la guanidil ciclasa. Todo ello sucede una vez que la MEL se une a sus receptores⁹⁸. También, se ha planteado la hipótesis de que los sitios de unión para la MEL estén, en realidad, difusamente distribuidos por todos los órganos corporales, presentando ritmicidad circadiana en estado funcional y estando sujetos a regulación por la propia MEL circundante, la cual depende de la síntesis de la misma¹⁰³. (Figura 14)



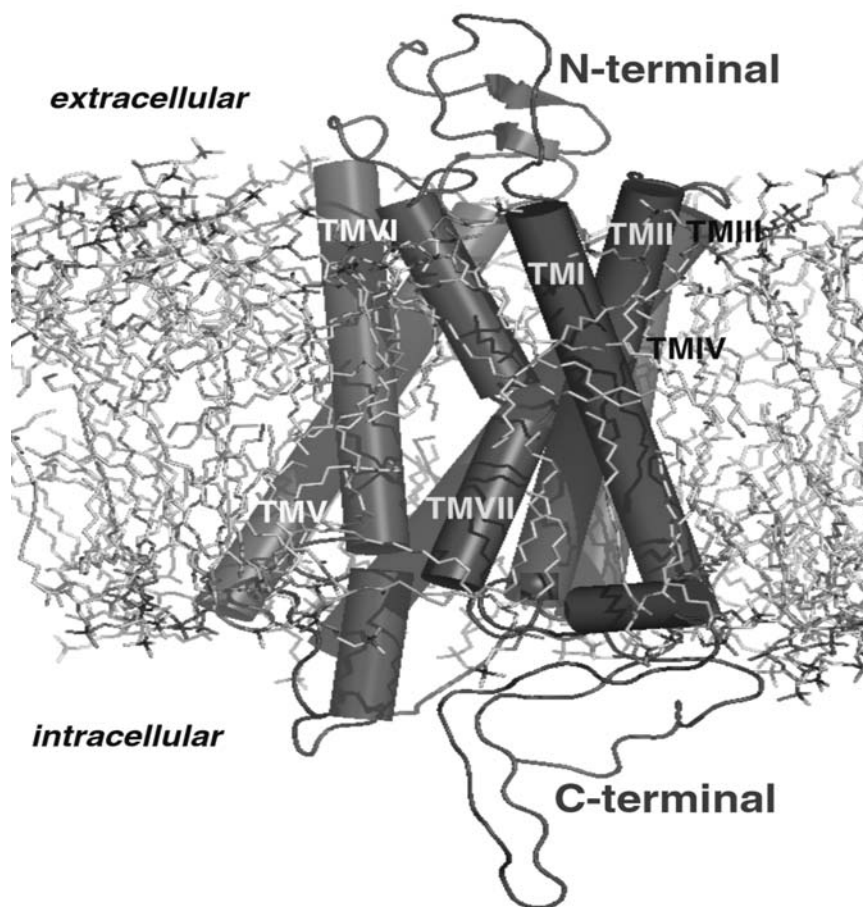


Figura 14. Modelo de receptor MT₂^X

1.2.5 PROPIEDADES FISIOLÓGICAS

La GP ejerce en el cuerpo humano una gran variedad de funciones, como glándula endocrina⁸⁰, como transductor³⁸, como regulador de hormonas⁴⁹ y como un modulador circadiano⁵⁹ (ciclos circadianos¹¹), participa en los ciclos estacionales³, sueño^{13,48}, temperatura corporal⁸⁵, funciones reproductivas¹⁰⁴ y sistema cardiovascular⁸⁰, etc.

Al avanzar la edad la GP, sufre cambios, entre ellos el de calcificación, por ejemplo en humanos se inicia durante la segunda década de vida y, hacia los 60 años de edad el 70% de la



GP puede estar calcificada, pero no por ello deja de secretar MEL³⁰. Así como en el hombre, también en el equino y el elefante, la GP tiende a calcificarse formando depósitos calcáreos, con un base orgánica sobre la que se fijan compuestos inorgánicos del tipo de los carbonatos y fosfatos de calcio y de magnesio^{16,102}.

La GP de los mamíferos es uno de los órganos más ricos en 5-HT, sustancia que se localiza en las terminaciones nerviosas y en los pinealocitos, que la transforman en MEL⁵⁹.

En los pinealocitos la actividad secretora de MEL involucra el retículo endoplásmico, aparato de Golgi, lisosomas los cuales deben ser considerados como indicadores morfológicos de la actividad secretora de la GP⁵⁰. La estructura y actividad secretora de los pinealocitos puede ser alterada por varias hormonas como estrógenos, testosterona, progesterona, hormona folículo estimulante (HFS), hormona luteinizante (HL) y prolactina. Estas hormonas pueden actuar directamente sobre los pinealocitos o alterar la inervación simpática de la GP, resultante en la disminución de impulsos nerviosos. La mayor evidencia de la actividad hormonal directa sobre la GP es la demostración de receptores hormonales en las fracciones subcelulares de GP.

La GP de los mamíferos y de muchas aves muestra una variación rítmica en la producción de 5-HT y MEL, dependientes de la iluminación diurna y de la oscuridad nocturna. Tanto en animales de mayor actividad nocturna como en aquellos con mayor actividad diurna, la concentración de 5-HT en la GP se observa al mediodía y es mínima a media noche y, existe un ritmo inverso en cuanto a la producción de MEL³⁶, con respecto a la 5-HT.

Los ritmos circadianos en la producción de 5-HT y MEL por la GP desaparecen por la iluminación continua, pero en cambio no son afectados por la oscuridad constante o por la



extracción de los ojos¹⁰⁸. Son influidos por la iluminación externa, pero están regulados por un sincronizador interno, reloj biológico, el cual está situado en el NSQ^{11,59}.

La GP adulta está inervada por fibras postganglionares que se originan en el GSCS, por lo que se le puede considerar un órgano efector del sistema nervioso autónomo (SNA)¹⁰⁶.

(Figura 15)

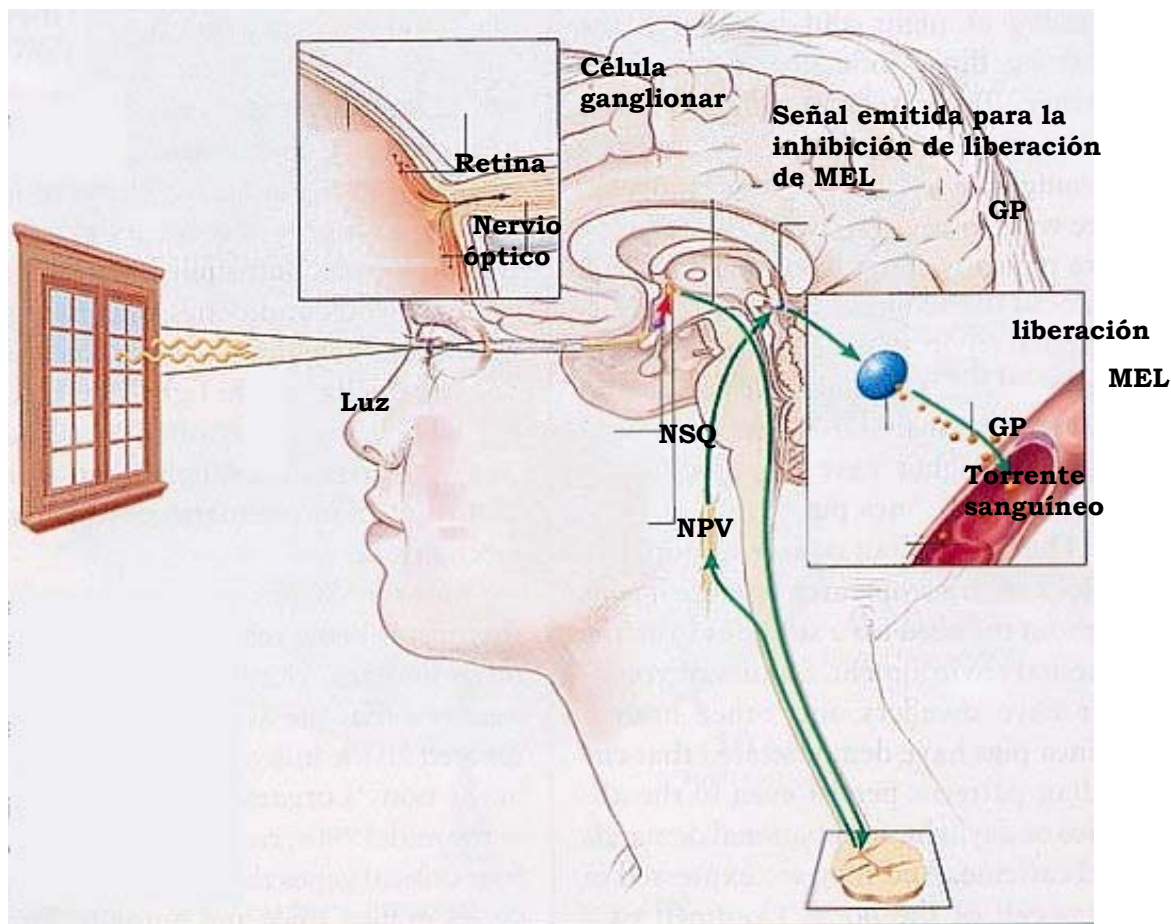


Figura 15 La vía nerviosa por la cual el efecto de la luz sobre la retina se transmite al GSCS. El haz retinohipotalámico lleva la señal luminosa al NSQ del hipotálamo. De ahí surge una vía multisináptica que lleva dicha señal al núcleo hipotalámico para ventricular (NHPV), al hipotálamo lateral, a la formación reticular y a células del asta intermediolateral de la parte superior de la médula dorsal, donde se hallan las neuronas preganglionares que llegan al GSCS. La resección bilateral de este ganglio (desnervación simpática) o la sección de sus fibras preganglionares en el cordón simpático provoca la desaparición de esos ritmos biológicos^{XI}.



La GP desempeña el papel de un transductor neuroendocrino que recibe la información luminosa a través de su inervación simpática o de conexiones centrales y transforma las señales nerviosas en señales hormonales mediante la secreción de MEL en la sangre. Esta modifica la función gonadal actuando sobre el hipotálamo, la hipófisis o la gónada³⁶. La conexión entre la GP y función humana reproductiva fue establecida en el siglo pasado a través de la observación de los efectos de tumores pineales en el desarrollo sexual humano⁵⁹. La GP en humanos influye en sistemas endocrinos/reproductivos (función de gónadas, tiroides y adrenales) y el sistema inmune (actividad leucocitaria)⁷⁶.

Si bien la luz ambiental constituye la señal más importante para el control neural de la GP, el aumento transitorio del flujo neural en el sistema simpático producido por el estrés hipoglucémico²³, impulsos sensoriales (sonido, aumento de temperatura,) inmovilización, administración de L-Dopa causa estimulación de la GP^{23,69}.

Por otro lado, la influencia de la GP en la homeostasis de los niveles de glucosa e insulina en sangre han sido sugeridas en varias investigaciones en las últimas décadas⁷⁶. Así la GP también modifica la actividad de otros órganos endocrinos como las glándulas adrenales⁷⁶.

En humanos la GP puede ser el sitio de tumores de células pineales (pinealomas) o tumores de células germinales (germinomas). Los signos y síntomas neurológicos son las manifestaciones clínicas predominantes por ejemplo hipertensión intracraneal, anomalías visuales y ataxia^{17,28}.

Desde el punto de vista electrofisiológico, la GP manifiesta una actividad eléctrica espontánea que varía por acción de la luz. Esta actividad espontánea aumenta si la actividad



simpática es inhibida; en cambio, se reduce intensamente ante la lesión bilateral de los núcleos habenuares o por la sección del tallo pineal³⁶.

En cuanto a los productos de la epífisis, tres familias de compuestos con actividad endocrina y que revierten secuelas de la pinealectomía se han aislado a partir de extractos pineales:

- Metoxindoles del tipo MEL.
- Péptidos de bajo peso molecular como la arginina-vasotocina (AVT), vasopresina, renina-angiotensina, somatostatina²⁸, péptidos relacionados con propiomelanocorticoides (POMC)^{23,36}.
- Proteínas del tipo de la sustancia inhibidora de las gonadotropinas, con actividad neuraminidásica y por tanto, con capacidad para inactivar en la circulación a la hormona luteinizante²³.

Siendo su producto principal la MEL se considera que la GP y la MEL tienen una acción inhibitoria sobre el sistema hipotálamo-hipófisis-tiroides³⁶.

1.2.6 PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS

La MEL tiene diversas propiedades farmacológicas, las cuales han sido utilizadas como tratamiento para diversos trastornos del sueño como son: insomnio crónico, jet-lag, irregularidades del sueño en pacientes ciegos, etc⁷⁴. Además, la MEL ha sido utilizada como tratamiento complementario de: insuficiencia hepática, hiperpigmentación cutánea, depresión y cáncer (Tabla 1).



Durante su administración se han observado, en algunos pacientes, los siguientes efectos adversos: mareos, fatiga, cefalea, confusión, disminución de la temperatura corporal y disforia en pacientes depresivos^{74,96}.

TABLA 1			
PROCESOS Y FUNCIONES BIOLÓGICAS QUE LA MELATONINA PUEDE PRODUCIR Y MECANISMO DE ACCIÓN PROPUESTO EN HUMANOS¹²			
Procesos o Funciones	Efecto	Mecanismo propuesto	Tipo de evidencia
Sueño	Efecto hipnótico y marcada propensión a dormir.	-Efecto hipodérmico (a dosis farmacológicas). -Acción mediada por receptores en el sistema límbico.	Ensayos clínicos controlados frente a placebo.
Ritmo circadiano	Control de ritmos circadianos y adaptación al ciclo luz-oscuridad.	-Secreción de MEL en respuesta al estímulo neural desde los ojos y NSQ. -Efectos mediados por receptores en tejido neural y periférico. -Termoregulación.	Estudios en animales y humanos sobre el patrón de secreción de MEL y el efecto de la luz y del ciclo luz-oscuridad.
Humor	Posible papel en los trastornos cíclicos humor (alteraciones afectivas estacionales, depresión).	Desconocido.	Estudios clínicos comparativos del patrón de secreción de MEL y estudios de fototerapia para alteraciones del humor.
Maduración sexual y reproducción	Inhibición de la reproducción.	-Inhibición del eje hipotálamico-hipofisiario-gonadal. -Efecto sobre la esteroidogénesis ovárica.	Estudios en animales y estudios clínicos comparativos del patrón de secreción de MEL (durante la pubertad y en mujeres con amenorrea)
Cáncer	Efectos antiproliferativos.	-Efecto antiproliferativo directo. -Aumento de la respuesta inmune. -Secuestro de radicales libres.	Estudios en animales <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> estudios <i>in vitro</i> en células neoplásticas humanas y en líneas celulares, y escasos ensayos clínicos en pocos pacientes.
Respuesta inmune	Aumento de la respuesta inmune.	Aumento de la producción de interleuquina por los linfocitos T colaboradores.	Estudios en animales y escasos estudios no controlados en humanos.
Envejecimiento	Posible efecto protector y disminución del daño celular.	Secuestro de radicales libres.	Estudios en animales <i>in Vitro</i> e <i>in vivo</i> .



1.3 Radicales Libres en Sistemas Biológicos

El término RL se utiliza para describir a una especie química, ya sea un átomo o un grupo de átomos con un electrón desapareado³⁴. Estas especies químicas se comportan como electrófilos y, atacan a especies nucleofílicas. Los RL son muy reactivos y se encuentran involucrados en muchos procesos, en algunos casos como materias primas o intermediarios de una reacción, y en otros como productos de desecho. Se producen dentro de los sistemas biológicos en muchos procesos fisiológicos, en donde tienen una actividad muy importante²².

Las reacciones de los radicales libres involucran tres pasos: iniciación, propagación y terminación.

La gran reactividad de estas especies químicas se debe a que tienen desapareado uno o más electrones en la última capa de valencia, lo que conduce a su inestabilidad y por lo tanto a su afinidad por un electrón para ocupar el espacio vacío en el orbital. Los RL en general tienen un tiempo de vida media muy pequeña, pero existen RL estables como el 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH)⁸¹.

En sistemas biológicos, los RL más frecuentes involucrados en los procesos fisiológicos se denominan especies reactivas y cuando el electrón desapareado se encuentra en el Oxígeno se denominan *ERO* (Especies Reactivas de Oxígeno) y cuando se encuentra en un átomo de Nitrógeno *ERN* (Especies Reactivas de Nitrógeno)³⁴.

Las especies más importantes, hasta ahora caracterizadas, que están relacionadas con procesos fisiológicos se muestran en la siguiente tabla 2:



Tabla 2. Principales tipos de especies reactivas presentes en sistemas biológicos (Hernández-Luis 2005)³⁴

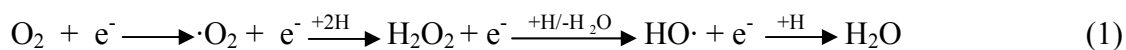
Radicales con Oxígeno (ERO)	
Nombre del radical	Fórmula
Radical hidroxilo	$\cdot\text{OH}$
Anión superóxido	$\cdot\text{O}_2^-$
Radical peroxilo	$\cdot\text{OOR}$
Radical perhidroxilo	$\cdot\text{OOH}$
Radical alcoxilo	$\cdot\text{OH}$

Radicales con Nitrógeno (ERN)	
Nombre del radical	Fórmula
Radical óxido nítrico	$\text{NO}\cdot$
Radical dióxido de nitrógeno	$\cdot\text{NO}_2$

1.3.1 Formación *in vivo* de las Especies Reactivas más importantes

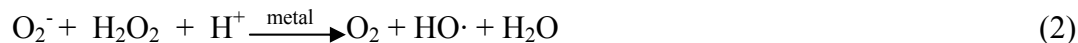
1.3.1.1 Especies reactivas con Oxígeno.²²

El anión superóxido se forma como subproducto de la cadena de transporte de electrones de mitocondrias y retículo endoplásmico y, en la activación de las células fagocíticas. Gracias a la participación del complejo NADPH oxidasa, el cual en un estado activado produce el anión como intermediario en el proceso de reducción de una molécula de oxígeno a agua, ecuación (1) donde participan varias enzimas⁵⁸.



El radical hidroxilo ($\text{HO}\cdot$) se forma a partir del anión superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$) cuando hay trazas de metales de transición como Hierro o Cobre. Se produce principalmente por iones metálicos según la reacción de Haber-Weiss con metales de transición, ecuación (2) y la reacción de Fenton, ecuación (3) que se lleva a cabo con el anión superóxido⁴⁰.

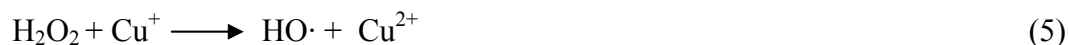




donde el Fe^{2+} es generado según la ecuación (4):



Cuando el metal es cobre, la secuencia de reacciones se lleva a cabo de forma similar a la anterior²⁹, ecuación (5)



donde el Cu^+ es generado según la ecuación (6):



Una segunda forma de producción del radical hidroxilo involucra al anión superóxido y al óxido nítrico, ecuación (7)



Debido a su alta reactividad y a su vida media tan corta 10^{-9} s, el radical hidroxilo es la especie más tóxica para el organismo, y su acción se limita a los sitios celulares vecinos al lugar donde es generado, por ejemplo membranas plasmáticas, moléculas de ácido desoxiribonucleico (ADN) y proteínas adyacentes.

1.3.1.2 ESPECIES REACTIVAS CON NITRÓGENO

La especie reactiva de nitrógeno más importante, el óxido nítrico ($\text{NO}\cdot$), participa directamente en el control de muchos procesos incluyendo la regulación del tono vascular en la modulación de la neurotransmisión, en la formación de la memoria y en actividad antimicrobiana, y actúa como segundo mensajero en el cerebro⁶².



Se forma principalmente por la actividad de la enzima oxido nítrico sintasa (NOS de Nitric Oxide Synthase) y, a pesar de las funciones que desarrolla, este RL es capaz de causar la inhibición de la síntesis de ADN y cuando se encuentra en exceso es capaz de generar citotoxicidad⁷⁹.

1.3.2 ESTRÉS OXIDATIVO

El estrés oxidativo se define como una serie de daños fisiológicos provocados por la oxidación celular que causa la formación de RL (entre ellos el anión superóxido, el radical hidroxilo, etc.)⁶⁰ y/o peróxido de hidrógeno en la célula, que provocan un desajuste en la relación prooxidante/antioxidante natural de la célula con tendencia favorable hacia el primero⁸³, que trae como principales consecuencias intracelulares los siguientes fenómenos:

- Sobreproducción de especies oxidantes.
- Descompartimentalización de los complejos iónicos presentes en algunas macromoléculas de importancia biológica.
- Modificación de las defensas contra los radicales libres.

Para que se den todas o algunas de las modificaciones expuestas, se requieren ciertos factores exógenos y/o endógenos a los que estamos expuestos los humanos, como se muestra en la tabla 3:

Es importante señalar que todos los organismos están expuestos de una u otra forma al estrés oxidativo causado por las especies reactivas y, para cada tipo de organismo existen diferentes formas de actuar en contra de los daños ocasionados por los RL.



Tabla 3. Principales factores que desencadenan el estrés oxidativo en humanos (Hernández-Luis, 2005)³⁴.

Factores endógenos	Factores exógenos
Ejercicio físico exhaustivo.	<i>Alimentos</i>
Inflamación crónica.	
Cáncer.	
Isquemia/repercusión.	
Estrés psicológico.	<i>Contaminantes</i>
	<i>Fármacos</i>
	<i>Radiaciones</i>
	Radiación ionizante, ultravioleta y microondas.
	<i>Adsorbentes dérmicos</i>
	Derivados del psoraleno (pigmentadores)

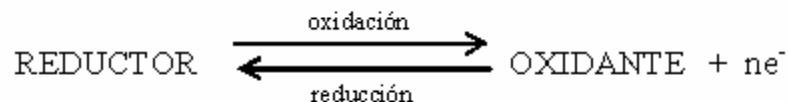
Gracias a los estudios en medicina que se han hecho con RL, se ha encontrado que el estrés oxidativo está relacionado con la aparición de diversos males, como las enfermedades inflamatorias [artritis⁵⁷, vasculitis¹⁰¹, glomerulonefritis⁸², lupus eritematoso⁶¹], enfermedades relacionadas con la isquemia [enfermedades del corazón⁶⁵, ataques fulminantes del corazón⁹],



síndrome de inmunodeficiencia adquirida (VIH)²⁶, enfisema pulmonar¹⁰⁰, úlceras gástricas²⁰, hipertensión⁴¹, enfermedades neurológicas [esclerosis múltiple⁹³, enfermedad de Alzheimer⁵³, enfermedad de Parkinson¹⁵, distrofia muscular⁷²], alcoholismo²¹, enfermedades relacionadas con el hábito de fumar⁷ y, en general, daños a la membrana celular, modificaciones a enzimas y proteínas, y daño al ADN. Inclusive, también está involucrado en el envejecimiento¹⁸ y a la generación del cáncer³².

1.4 Los Antioxidantes en sistemas Biológicos

La oxidación se define como el intercambio de electrones de un átomo a otro bajo el esquema general³⁴:



El AOX se define como una sustancia natural o sintética agregada a productos para prevenir o retardar su deterioro por la acción del oxígeno en el aire.

En el área de bioquímica y medicina los AOX son enzimas u otras sustancias orgánicas como la vitamina E y β -caroteno capaces de contrarrestar los efectos perjudiciales de la oxidación en el tejido animal.

Los sistemas biológicos no están exentos de las reacciones de oxidación por parte de moléculas oxidantes como los RL, por lo que poseen una importante cantidad de sistemas AOX. Estos AOX del organismo, se pueden definir como “cualquier sustancia que, cuando se encuentra presente en bajas concentraciones comparadas con el sustrato que se puede oxidar,



detiene o previene significativamente la oxidación de ese sustrato”³¹. Los sustratos que se pueden oxidar en sistemas biológicos incluyen todo lo que se puede encontrar en las células vivas, incluyendo proteínas, lípidos, carbohidratos y ADN. Dentro de la diversa protección que muestran los AOX está el prevenir los daños ocasionados por las reacciones de las especies reactivas (ERO ó ERN), con las moléculas endógenas y, que incluyen la prevención de la formación de esas especies reactivas, la intercepción de las ya formadas y la reparación de los tejidos dañados.

En general, los AOX se clasifican en dos amplias categorías:

- Los AOX preventivos, que disminuyen la formación de RL por descomposición enzimática de las moléculas precursoras o por el secuestro por quelación de iones metálicos que producen radicales libres.
- Los AOX directos, llamados “scavengers” de RL, que directamente los neutralizan, inhibiendo así la iniciación o propagación de la cadena de reacciones de oxidación.

También pueden ser clasificados en enzimáticos y no enzimáticos, ejemplos que se muestran en la tabla 4:

Cuatro enzimas son las que neutralizan a los RL en el organismo naturalmente y, son la superóxido dismutasa, metionina reductasa, catalasa y glutatión peroxidasa. El cuerpo las produce pero, la acción de estos “scavengers”, pueden ser suplementadas por una dieta rica en AOX como las vitaminas A, E y C, el Selenio (Se), el Zinc (Zn), entre otros nutrientes. (Tabla 5 y Figura 16)



Tabla 4 Ejemplos de AOX enzimáticos y no enzimáticos³⁴.

Enzimáticos	No enzimáticos
superóxido dismutasa	α -tocoferol (Vitamina E)
GSH peroxidasa	ascorbato (Vitamina A)
Catalasa	flavonoides
NADPH-quinona	sintéticos (BHA, BHT)
oxidoreductasas	β -caroteno
epóxido hidrolasa	Urato
enzimas de conjugación (UDP-glucoroniltransferasa)	proteínas plasmáticas
GSSG-reductasa	
sistemas de transporte (exportación de conjugados)	

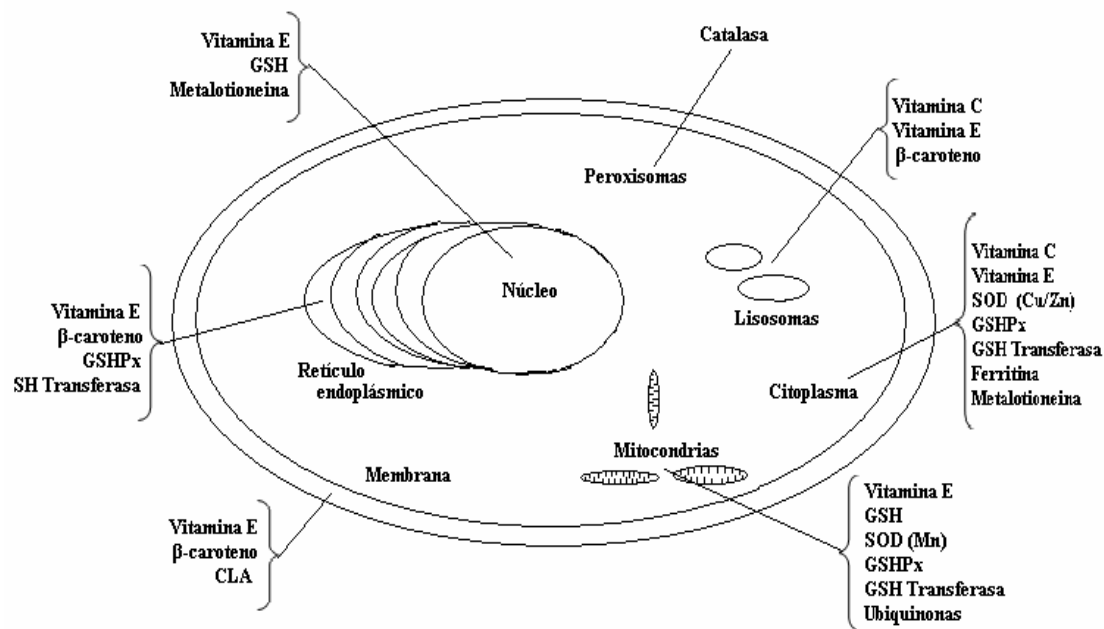
**Figura 16.** Distribución de los AOX a nivel celular⁵²

Tabla 5 Algunos antioxidantes y sus funciones destruye al H_2O_2 , principal fuente de los tóxicos radicales hidroxilos.

Algunos antioxidantes y sus funciones	
Antioxidante	Función
Superóxido dismutasa (SOD)	Enzima que se encuentre dentro de las células. Remueve los radicales superóxidos. Necesita la presencia del Zn.
Catalasa	Esta enzima remueve el peróxido de hidrógeno.
Glutación peroxidasa	Esta enzima intracelular contiene Se, remueve los radicales peróxidos. Es detoxificante.
Ácido ascórbico (Vitamina C)	AOX soluble en agua (hidrosoluble) figura en primera línea en la defensa antioxidante del plasma; es un poderoso inhibidor de la oxidación de los lípidos. Regenera la Vitamina E. Protector de los efectos del tabaco.
Citroflavonoides	Eficaz su uso en conjunción con la Vitamina C a la que aumenta su capacidad AOX. La hesperidina y la rutina son dos de ellos.
Tocoferol (Vitamina E)	Principal AOX, soluble en lípidos (liposoluble), previene la oxidación de las grasas; aumenta su acción en presencia del Zn.
β -caroteno (provitamina A) y Vitamina A	El β -caroteno se convierte en nuestro organismo en la Vitamina A, es un poderoso AOX liposoluble. No conviene el uso del beta caroteno en fumadores.
Coenzima Q 10 (ubiquinona)	Disminuye con la edad y en la esclerosis múltiple.
Ácido gama linoleico (GLA)	Es un ácido graso esencial, regula la función de los linfocitos T, responsables -entre otros elementos- de las defensas de nuestro organismo.
Zinc	Mineral AOX que interviene en el metabolismo de la SOD y de la Vitamina E, entre otras funciones.
Selenio	Otro mineral AOX importante para la acción de la enzima glutación peroxidasa y de la vitamina E.
Glutación	Poderoso AOX que protege contra los efectos dañinos de metales pesados, tabaco y alcohol.
L- cisterna	Aminoácido necesario para producir el Glutación.
Ácido tióctico	También es un importante protector hepático.
Melatonina	Activo y poderoso AOX, además de ser un cronobiótico regulador fisiológico del sueño.



La MEL tiene tanto efectos preventivos como de “scavenger” de RL. Sus efectos preventivos comprenden¹⁰⁹:

- a. El aumento de la actividad de la principal enzima AOX cerebral, la GPx, que destruye al H₂O₂ principal fuente de los tóxicos radicales hidroxilos.
- b. El aumento de la actividad de la enzima G6PD, de actividad AOX por resultar en la generación de NADPH, cofactor requerido para la conversión del GLUT oxidado en reducido.
- c. La inhibición de la actividad de la enzima de síntesis del NO· (NOSintasa), pues el NO puede interaccionar con el anión ONOO⁻ produciendo radicales hidroxilo.

En relación con los efectos directos de la MEL, como “scavenger”²⁴, estos fueron demostrados por primera vez en un sistema libre de células, siendo la MEL, más efectiva que otros AOX reconocidos, como la vitamina E, el GLUT, el manitol, para neutralizar los radicales libres reducidos por fotólisis del H₂O₂. Una ventaja de la MEL es que no se transforma luego de la reacción en un RL de actividad biológica, como ocurre con otros derivados indólicos. El uso de MEL asociado al de vitamina E facilita el reciclado del radical tocoferilo a tocoferol, pudiéndose demostrar actividad sinérgica entre estos AOX, semejante a la demostrada entre las vitaminas E y C. Los resultados más elocuentes de la acción de “scavenger” de RL de la MEL son¹⁰⁹:

- ❖ Prevención del daño cromosómico producido por radiación en cultivos de linfocitos humanos.
- ❖ Prevención del daño por β-amiloide de Alzheimer *in vitro* e *in vivo*.
- ❖ Prevención del daño de la sustancia negra en el parkinsonismo experimental.



- ❖ Prevención del aumento de peroxidación de lípidos cerebrales en diversas intoxicaciones.
- ❖ Prevención de la apoptosis (muerte programada) neuronal en diversos modelos experimentales.
- ❖ Protección por MEL de la peroxidación de lípidos producida por herbicidas (paraquat), lipopolisacáridos (LPS), tetracloruro de carbono, aloxano.
- ❖ Prevención de la inducción de cataratas en ratas recién nacidas por depresión de GLUT.
- ❖ Prevención del daño oxidativo de ADN producido por carcinógenos.

La MEL es un acarreador efectivo de RL tanto en concentraciones fisiológicas como farmacológicas. La MEL suprime la actividad de oxígeno singulete, radical de O_2^- , radical hidroxilo, radical peroxilo y anión $ONOO^-$. La MEL tiene la capacidad de proteger macromoléculas de todos los compartimentos celulares ante el daño oxidativo, en especial a las membranas celulares y la ADN nuclear, debido a su liposolubilidad. La MEL también, posee otros efectos beneficiosos, por ejemplo, mejora la cadena de transporte de electrones, reduce el daño oxidativo mitocondrial, aumenta la producción de ATP y modula el metabolismo de energía de la mitocondria¹¹⁰.

La MEL es un AOX extremadamente potente y cambiante, que protege cada parte de la célula y cada célula del organismo, incluyendo las neuronas. Se asocian más de 100 enfermedades degenerativas (entre las cuales las cataratas, el decaimiento macular de la retina,



la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la artrosis, etc.) a la reducción de las defensas AOX del organismo¹¹¹.

1.5 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA MEL

La MEL y algunos de sus metabolitos poseen la capacidad de depurar por sí mismos algunas especies reactivas de especial interés en la mitocondria.^{1,47,78} La primera evidencia que mostró esta capacidad de la MEL fue la neutralización por parte de la indolamina del radical hidroxilo ($\text{HO}\cdot$)⁸⁸, eliminándose dos moléculas de $\text{HO}\cdot$ por cada molécula de MEL y produciéndose por esta interacción 3-hidroximelatonina cíclica, la cual es detectada en la orina como producto de excreción^{89,91}.

El H_2O_2 , también es susceptible de ser depurado por la MEL, formándose AFMK⁹⁰. Estos experimentos también han sido comprobados *in vitro*⁷⁸. Tanto la AFMK, productos de reacción de la MEL con $\text{HO}\cdot$ y H_2O_2 respectivamente, parecen tener funciones depuradoras de agentes tóxicos^{1,47,78}.

La MEL también puede depurar radicales peroxilo, interfiriendo así en la propagación de la peroxidación lipídica, aunque este hecho podría deberse más a la acción depuradora de otras especies reactivas que pueden provocar peroxidación lipídica que a la depuración en sí de los radicales peroxilo. No obstante, la MEL es altamente eficaz para reducir los niveles de peroxidación lipídica, tanto basales como estimulados por estrés oxidativo⁷⁸.

Además de las ERO, la MEL actúa como depuradora de ERN, reaccionando con el óxido nítrico ($\text{NO}\cdot$) para formar N-nitrosomelatonina, así como con los $\text{ONOO}\cdot$, formando un



producto aún no del todo clasificado puesto que diferentes grupos han hallado diferentes productos en la reacción de la MEL con el ONOO-.

Junto a la capacidad intrínseca para depurar RL, la MEL posee la capacidad de estimular la actividad y expresión de otros sistemas AOX^{5,43,56}, estableciendo así una forma de acción indirecta para la reducción del estrés oxidativo. En primer lugar, la MEL estimula el ciclo del glutatión, aumentando la actividad de la glutatión peroxidasa (GPx) y la glutatión reductasa (GRd), regulando así el balance glutatión oxidado (GSSG)/glutatión reducido (GSH)^{54,66}. Además, la MEL aumenta la producción de GSH por la estimulación de la γ -glutamylcisteina sintasa, enzima limitante en la ruta de síntesis de glutatión⁶⁸ y, también estimula la glucosa-6-fosfato deshidrogenada (G6PD), la cual genera la NADPH, requerido por la GRd⁹⁵.

En el mismo sentido, se ha descrito que la MEL estimula otras enzimas AOX como la SOD y las catalasas^{1,47,78}. También, ejerce una acción sinérgica con otros AOX como la vitamina E y C⁷⁸.

En resumen, sea por acción directa y /o indirecta, la MEL es un potente AOX con importantes propiedades para actuar en la mitocondria y, en consecuencia, protegerá el ADNmit, las membranas lipídicas y las proteínas mitocondriales del daño oxidativo (Figura 17).



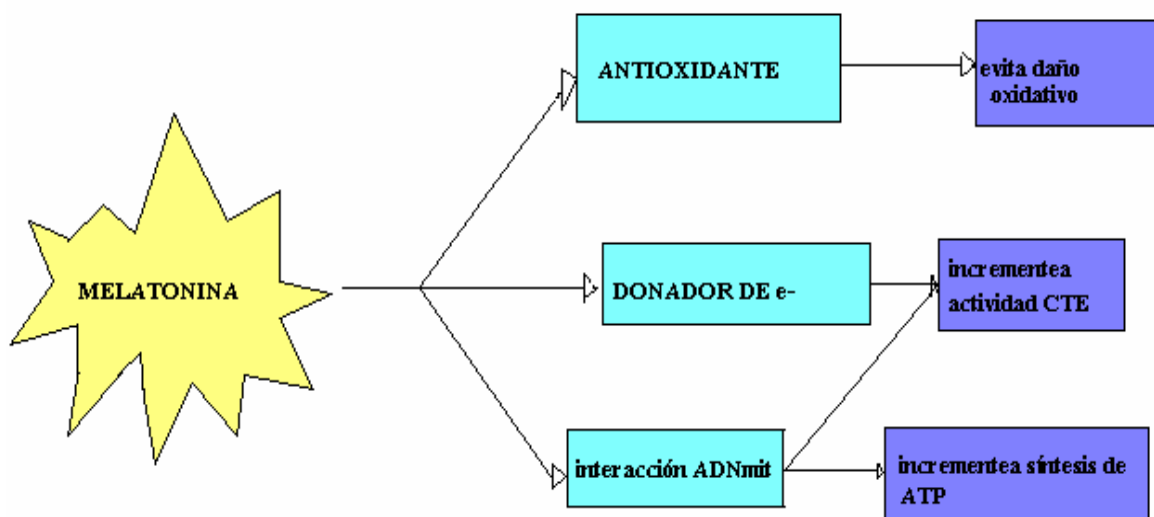


Figura 17. Esquema de los efectos de la melatonina en la mitocondria^{VI}.



Objetivos

OBJETIVO GENERAL

Determinar si la Melatonina tiene o no propiedades antioxidantes.

OBJETIVO PARTICULAR

Búsqueda bibliográfica que permita la recopilación de información sobre Melatonina con su propiedad de antioxidante natural.



Metodología

Se realizó revisión exhaustiva y actualizada, búsqueda bibliográfica de información e imágenes relacionadas con la MEL y los posibles efectos de ésta como AOX en el tratamiento de las patologías que afectan a las personas: Alzheimer, cáncer, ansiedad, diabetes, “Jet-Lag”, apoptosis celular, arteroesclerosis, obesidad, actividad antigonadotrópica, como termorregulador, depresión y epilepsia.

Para ello, utilizaron los siguientes recursos:

- ❖ Bibliotecas: Biblioteca de la Facultad de Química, Biblioteca de la Facultad de Medicina y Biblioteca Central.
- ❖ Hemerotecas: Hemeroteca de la Facultad de Química, Hemeroteca de la Facultad de Medicina, Hemeroteca del Instituto de Investigaciones Biomédicas, Hemeroteca del Centro Medico y Hemeroteca del Hospital General.
- ❖ Revistas Electrónicas: Disponibles en las bases de datos de la Dirección General de Bibliotecas (UNAM).
- ❖ Buscador de Internet: Google, base de datos de PUBMED (Medline).

Una vez encontrada, la información se recopiló, se leyó, se clasificó y se analizó. Durante la clasificación, se seleccionaron las imágenes de acuerdo a la información obtenida.

NOTA: La bibliografía utilizada comprende los años 2000-2006, salvo en algunos casos, en que era necesario utilizar referencias antiguas comparadas con las utilizadas, en las que el valor histórico, o de imágenes era necesario utilizar.



Resultados

Con base a la investigación bibliográfica realizada, se llegó a los siguientes resultados:

En todos los estudios *in vitro* donde se comparó la efectividad de la MEL y otros AOXs conocidos, la MEL demostró ser más efectiva neutralizando RL⁶³. Además, comparada la efectividad con el GHS, la vitamina E o el ácido ascórbico, la MEL parece tener mayor eficacia protegiendo a las células frente al estrés oxidativo⁴². Por un lado, se sabe que la MEL preserva macromoléculas como: ADN, proteínas o lípidos del daño oxidativo en numerosas condiciones experimentales dañinas para la célula, (exposición a ROS y RNS). Por otro lado, tiene efecto inhibitor de la síntesis de ADN (efecto antiproliferativo) en determinadas células tumorales de pituitaria *in vitro*³⁹.

También, la MEL es especialmente eficiente como depurador del altamente tóxico radical hidroxilo ($\cdot\text{OH}$), hasta la fecha, es mejor que otros AOXs conocidos para depurarlo³⁵. Diversos estudios reportan que la concentración de MEL requerida para depurar el 50% (CI50) de los $\cdot\text{OH}$ producidos en una solución de H_2O_2 expuesta a luz ultravioleta (UV), fue de 21 mM, mientras que el CI50 para el GHS fue de 123 mM, es decir, *in vitro* la MEL es 5 veces mejor que el GHS y 15 veces mejor que el manitol^{35,42}.

La MEL, no solo tiene efecto protector periférico, sino que también, lo tiene en SNC, para estudiar el efecto protector a este nivel se han utilizado varios modelos como en el que se utiliza el ácido kaínico, este compuesto produce una peroxidación lipídica muy significativa, que no aparece en presencia de MEL, este efecto protector de la MEL se extiende también a la toxicidad dependiente del receptor NMDA⁴⁵.

La obtención de MEL de origen natural es un proceso costoso, por lo que se ha recurrido a la síntesis de ella y algunos análogos. Aplicando los análogos de la MEL se encontró que eran menos efectivos que ella misma como AOX³⁵ (Figura 18), como se muestra en la siguiente tabla 6:

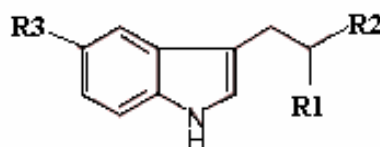


Figura 18. Estructura base de la melatonina³⁵.

Tabla 6. Análogos de melatonina³⁵.

R ₁	R ₂	R ₃	NOMBRE	CAE (mM)
NH ₂	H	H	Triptamina	2.61 ± 0.03
NH ₂	H	OCH ₃	Metoxitriptamina	3.14 ± 0.04
NHCOCH ₃	H	OCH ₃	Melatonina	3.96 ± 0.11
NH ₂	H	OH	Serotonina	2.88 ± 0.03
NH ₂	COOH	H	Triptofano	2.32 ± 0.05
NHCOCH ₃	COOH	H	N-acetilriptofano	1.73 ± 0.03
NHCH ₃	COOH	H	Abrina	2.70 ± 0.04
NH ₂	COOH	OH	5-hidroxitriptofano	3.45 ± 0.02
NH ₂	COOCH ₂ CH ₃	H	Etilriptofanato	2.56 ± 0.02
NH ₂	Trp-COOH	H	Trp-Trp	3.31 ± 0.03
NH ₂	Gly-Gly-COOH	H	Trp-Gly-Gly	2.49 ± 0.04
Phe	COOCH ₃	H	Phe-Trp-OCH ₃	1.32 ± 0.02

(CAE = capacidad antioxidante equivalente)

Con otros estudios se ha demostrado que cuando la MEL destoxifica los ·OH, se transforma en un radical catión de muy baja toxicidad, en el proceso se convierte en N-acetil-N-formil-5-metoxikinurenamina⁷⁸. Además, se sabe que la MEL actúa también, como un eficaz AOX, depurando los radicales peroxilo (LOO·) generados durante la peroxidación lipídica; en este caso, es dos veces más potente que la vitamina E⁶³. Existen estudios en los que se muestra que la generación de RL inducida por el carcinógeno safrol (300mg/Kg de peso) dañan gravemente al ADN y casi es totalmente bloqueada por la MEL (0.2mg/Kg de

peso); el efecto de la MEL se consigue con una dosis 1500 veces menor que la del carcinógeno⁹³. El daño al ADN producido por generación de radicales ionizantes, se reduce si previamente se administra MEL, siendo este caso unas veinte veces más potente que el dimetilsulfóxido (DMSO), un conocido agente protector frente a dichas radiaciones⁹⁵. En otro modelo, se expusieron linfocitos humanos a radiación ionizante gamma (150kGy, usando Cesio como fuente de radiación). La presencia de MEL en el medio de incubación de los linfocitos redujo el daño cromosómico de forma dosis-dependiente⁹⁵.

Respecto a las acciones *in vivo* de la MEL podría decirse que los estudios realizados demostraron hasta la fecha, que ésta ofrece protección AOX a una gran variedad de macromoléculas, proteínas y lípidos, incluyendo ADN. Además, esta protección se encuentra en el núcleo, citosol y en la membrana celular. La MEL es un excelente inhibidor de la peroxidación lipídica inducida por diferentes fármacos como el paraquat (potente herbicida) y los lipopolisacáridos bacterianos. El paraquat es especialmente tóxico para los pulmones e hígado, la administración de este fármaco (20-70 mg/Kg de peso) a ratas, provoca un significativo aumento de la peroxidación lipídica en estos tejidos, efecto totalmente bloqueado por la administración de MEL (10mg/Kg de peso)²⁷. Otro estudio, donde se administró el carcinógeno safrol por la noche y el día, se comprobó que el daño de ADN fue mucho menor al administrar el safrol por la noche, es decir, cuando se presenta el pico mayor de la concentración de MEL, en animales pinealectomizados, que pierden la principal fuente de MEL, el daño del ADN fue mucho mayor. No hubo protección alguna frente al safrol. El resultado indica que los niveles fisiológicos de MEL son suficientes para combatir el daño oxidativo debido a carcinógenos como el safrol o similares⁹³.

En otro estudio, se reportó que la MEL es dos veces más potente que el trolox (una forma hidrosoluble de la vitamina E) para depurar LOO· radical activamente reducido por dicha vitamina E⁴⁵.

Las proteínas citosólicas también se ven protegidas por la MEL frente a los RL, y en situaciones experimentales donde la falta de GHS es suplida por la MEL⁶³.

Todos estos antecedentes tienden a indicarnos que la MEL tiene propiedades antioxidantes.

Conclusiones

- ❖ Comparada la efectividad con el GHS, la vitamina E o el ácido ascórbico, la MEL parece tener mayor eficacia protegiendo a las células frente al estrés oxidativo⁴².
- ❖ La MEL es especialmente eficiente como depurador del altamente tóxico radical hidroxilo ($\cdot\text{OH}$), hasta la fecha, es mejor que otros AOXs conocidos para depurarlo³⁵.
- ❖ La MEL, no solo tiene efecto protector periférico, sino que también, lo tiene en SNC⁴⁵.
- ❖ La MEL es dos veces más potente que el trolox (una forma hidrosoluble de la vitamina E) para depurar $\text{LOO}\cdot$ radical activamente reducido por dicha vitamina E⁴⁵.



Referencias

1. Acuña-Castroviejo D, Martín M, Macías M, Escames G, León J, Khaldy H, Reiter RJ. "Melatonin, mitochondrial and cellular bioenergetics". *J. Pineal Res.* 30:65 **2001**.
2. Acuña-Castroviejo D, Pablos MI, Menéndez-Peláez A, Reiter RJ. "Melatonin receptors in purified cell nuclei of liver". *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 82:253, **1993**.
3. Alarma-Estrany P, Pintor J. "Melatonin receptors in the eye: location, second messengers and role in ocular physiology". *Pharmacol. Ther.* 13(3):507-22. **2007**.
4. Aldhous M, Franey C, Wright J and Arendt J. "Plasma concentrations of melatonin in man following oral absorption of different preparations". *Br. J. Clin. Pharmacol.* 19:517-521, **1985**.
5. Antolin I, Mayo JC, Sainz RM, del Brio Mde L. Herrera F, Martin V, Rodríguez C. "Protective effect of melatonin in a chronic experimental model of Parkinson's disease". *Brain Res.* 943 (2):163-173, **2002**.
6. Arendt J. "Melatonin and the pineal gland: influence on mammalian seasonal and circadian physiology". *Rev. Reprod.* 3, 13-22 **1998**.
7. Asami S, Manabe H, Miyake J, Tsurudome Y, Hirano T, Yamaguchi R, Itoh H. and Kasai H. "Cigarette smoking induces an increase in oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in a central site of the human lung". *Carcinogenesis* 18:1763-1766, **1997**.
8. Axelrod J. "The Pineal Gland: a neurochemical transducer". *Science* 184 1341-1348, **1974**.
9. Baker K, Marcus CB, Huffam K, Kart H, Malfroy B and Doctrow SR. "Synthetic combined superoxide dismutase/catalase mimetics are protective as a delayed treatment in a rat stroke model: a key role for reactive oxygen species in ischemic brain injury". *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 284, 215-221, **1998**.
10. Barrenetxe J, Delagrange P and Martinez JA. "Physiological and metabolic functions of Melatonin". *J. Physiol. Biochem.* 60(1):61-72, **2004**.



11. Brennan R, Jan JE, Lyons CJ. "Light, dark, and melatonin: emerging evidence for the importance of melatonin in ocular physiology". *Eye*. **2006** Sep 22; [Epub ahead of print]
12. Brzezinski A. "Melatonin in humans". *N. Eng. J. Med.* 336(3): 186-195, **1997**.
13. Cajochen C, Krauchi K, Wirz-Justice A. "Role of melatonin in the regulation of human circadian rhythms and sleep". *J. Neuroendocrinol.* 15(4):432-7, **2003**.
14. Chen S. "Older people spend less time asleep". *Geriatrics Aging* 2(2):12-19, **1994**.
15. Cohen G. "Oxy-radical toxicity in catecholamine neurons". *Neurotoxicology* 5, 77-82, **1984**.
16. Cohen M, Roselle D, Chabner B, Schmidt TJ and Liman M. "Evidence for a cytoplasmic melatonin receptor". *Nature*, 274:894-895, **1978**.
17. Conn Michael P. "Neuroendocrinology in Physiology and Medicine". Cap 23 Influence of Light and Pineal Gland on Biological Rhythms Humana Press EUA 405-420, **2000**.
18. Cruz-Sánchez FF, Cusidó M, Fuíz-Ávila L, y Esqueda J. "Patología Neuronal". en Cruz-Sánchez FF. "Neurología. Diagnóstico y clínica." Ed. Edimsa pp. 21-56, **2000**.
19. Cubero Juárez J. "Triptofano, Melatonina y Ritmos de actividad/inactividad en animales diurnos y niños lactantes. Fagocitosis y metabolismo oxidativo". Tesis de Licenciatura Facultad de Medicina UNAM, **2004**.
20. Davies GR, Simmonds NJ, Stevens TRJ, Grandison A, Blake DR and Tampton DS. "Mucosal reactive oxygen metabolite production in duodenal ulcer disease". *Gut* 33, 1467-1472, **1992**.
21. Dianzani MU. "Lipid peroxidation in ethanol poisoning: a critical reconsideration". *Alcohol Alcohol* 20, 161-173, **1985**.
22. Díaz L B, Colmenero UMD y Bernardo Marín FB. "Capacidad antioxidante de la melatonina: su papel defensivo contra afecciones relacionadas con la edad". *Med. Clin. (Barc)*; 110: 668-676, **1998**.



23. Dorantes Cuella YA, Martinez Sibaja C, Guzmán Blanco A. "Endocrinología clínica". *El manual moderno* 2da edición México pp. 93-96, **2005**.
24. Dun-Xian Tan, Lucien C, Manchester Russel J, Reiter RJ, Benjamin F, Plummer, Janice Limson, Susan T. Weintraub, and Wenbo Qi. "Melatonin directly scavengers hydrogen peroxide: a potentially new metabolic pathway of melatonin biotransformation". *Free Radical Biol. Med.* 29(11):1177-1185, **2000**.
25. Esrfoglu M, Gul M, Ates B, Batcioglu K, and Selimoglu MA. "Antioxidative effect of melatonin, ascorbic acid and N-acetylcysteine on caerulein-induced pancreatitis and associated liver injury in rats". *World J. Gastroenterol.* 14;12 (2):259-264, **2006**
26. Flores SC, Marecki JC, Harper KP, Bose SK and McCord JM. "Tat protein of human immunodeficiency virus type I represses expression of manganese superoxide dismutase in HeLa cells". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 7632-7636, **1993**.
27. García-Rubio I, Matas P and Miguez MP. "Protective Effect of Melatonin on Paraquat- induced Cytotoxicity in Isolated Rat Hepatocytes" *Hum. Exp. Toxicol.* 24(9):475-480, **2005**.
28. Greenspan Francis S. & Gardner G. David. "Endocrinología básica y clínica". *El manual moderno* pp.61 edición, **2005**.
29. Gutteridge JM, and Wilkins S. "Copper-dependent hydroxyl radical damage to ascorbic acid: formation of a thiobarbituric acid-reactive product". *FEBS Lett.* 137(2):327-330, **1982**.
30. Hadley M.E. "Papel endocrino de la glándula pineal" En: *Endocrinología*. Ed. *Prentice Hall*. pp: 535-538, **1997**.
31. Halliwell B. "How to characterize a biological antioxidant". *Free Radical Res. Commun.* 9:1, 1-32, **1990**.
32. Halliwell B and Gutteridge JMC. "Free radicals in Biology and Medicine". *Oxford University Press*, 3rd ed., Oxford University, New York, USA, 48-92, **1999**.
33. Hardeland R "Antioxidative protection by melatonin: multiplicity of mechanisms from radical detoxification to radical avoidance". *Endocrine*, 27 (2): 119-130, **2005**.



34. Hernández Luis F. "El estrés oxidativo. Temas de Toxicología. Apuntes para la materia de Toxicología" Facultad de Química UNAM., **2005**.
35. Herraiz T and Galisteo J. "Endogenous and Dietary Indoles: A Class Antioxidants and Radical Scavengers in the ABTS Assay". *Free Radic. Res.* 38(3):323-331, **2004**.
36. Houssay BA, "Fisiología de Houssay". Pag. 632, *El Ateneo*, Argentina, **2000**.
37. Irala Rayes Ma. del Refugio, Trabajo monográfico de actualización: "Alzheimer y Melatonina". Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, **2006**.
38. Jara Albarran A. "Endocrinología" edit.,. *Médica Panamericana España*, pp30, **2003**.
39. Karasek M, Guszka A, Lawnicka H, Kurnet-Radek J and Pawlikowski M. "Melatonin Inhibits growth of diethylstilbestrol-induced prolactin-secreting pituitary tumor in vitro: possible involvement of nuclear RZR/ROR receptors". *J. Pineal Res.* 34(4):294-296 **2003**.
40. Kehrer J. "The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity". *Toxicol.* 149, 43-50, **2000**.
41. Kerr S, Brosnan MJ, Mcintyre M, Reid JL, Dominiczak AF and Hamilton CA. "Superoxide anion production is increased in a model of genetic hypertension: role of the endothelium". *Hypertension* 33, 1353-1358, **1999**.
42. Koc M, Taysi S, Emin B M and Bakan N. "Melatonin protects rat liver against irradiation-induced oxidative injury". *J. Radiation Res. (Tokio)* 44(3):211-215, **2005**.
43. Kotler M, Rodriguez C, Sainz RM, Antolin I, Menendez-Pelaez A. "Melatonin increases gene expression for antioxidant enzymes in rat brain cortex". *J. Pineal Res.* 24(2):83, **1998**.
44. Küller R. "The influence of light on circarhythms in humans" *J. Physiol. Antropol. Appl. Human SCI.* 21(2):87-91, **2002**.
45. Lee H, Jang YH and Lee SR. "Protective effect of Propofol Against Kainic Acid-induced Lipid Peroxidation in Mouse Brain Homogenates: Comparison with Trolox and Melatonin". *J. Neurosurg. Anesthesiol.* 17(3):144-148, **2005**.



46. Lerner AB, Case JD and Takahashi Y. "Isolation of Melatonin a Pineal Factor that lightens Melanocytes". *J. Biol. Chem.* 235: 1992-1997, **1960**.
47. León J, Acuña-Castroviejo D, Sainz RM, Mayo JC, Tan DX and Reiter RJ. "Melatonin and mitochondrial function". *Life Sci.* 75:765 **2004**.
48. Lewy AJ, Ahmed S and Sack RL. "Phase shifting the human circadian clock using melatonin". *Behav. Brain. Res.* 73(1-2):131-4, **1996**.
49. Lewy AJ, Sack RL, Blood ML, Bauer VK, Cutler NL and Thomas KH. "Melatonin marks circadian phase position and resets the endogenous circadian pacemaker in humans". *Ciba Found Symp.* 183:303-17; Discussion 317-21, **1995**.
50. Lima IMB, Reis IC and Lima MA. "Influence of the Pineal Gland on the Physiology, Morphometry and Morphology of Pancreatic Islets in rats". *Rev. Brasil. Biol.*, 61(2): 333-340, **2001**.
51. López García LC. "Fisiopatología mitocondrial en la sepsis experimental: efecto protector de la melatonina" Universidad de Granada Instituto de Biotecnología Facultad de Medicina Tesis Doctoral Departamento de Fisiología, Granada Esp. **2005**.
52. Lucas Florentino B. "Apuntes de Toxicología" del semestre **2007-1**
53. Lyras L, Cairns NJ, Jenner A, Jenner P and Halliwell B. "An assessment of oxidative damage to proteins, lipids and DNA in brain from patients with Alzheimer's disease". *J. Neurochem.* 68, 2061-2069, **1997**.
54. Martín M, Macías M, Escames G, León J and Acuña-castroviejo D. "Melatonin but not vitamins C and E maintains glutathione homeostasis in t-butyl hydroperoxide-induced mitochondrial oxidative stress". *FASEB J.* 14: 1677, **2000**.
55. Martín M, Macías M, León J, Escames G, Khaldy H and Acuña-Castroviejo D. "Melatonin increases the activity of the oxidative phosphorylation enzymes and the production of ATP in rat brain in liver mitochondrial". *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 34:348, **2002**.
56. Mayo JC, Sainz RM, Antolin I, Herera F, Martín V and Rodríguez C. "Melatonin regulation of antioxidant enzyme gene expression". *Cell. Mol. Life Sci.* 59(10): 1706-1713, **2002**.
57. McCord J.M. "Free radicals and inflammation: protection of synovial fluid by superoxide dismutase". *Science* 185, 529-531, **1974**.



58. McCord JM. "The evolution of free readicals and oxidative stress". *Am. J. Med.* 108 (8), 652-659, **2000**.
59. Mila Macchi M, JeVrey N Bruce. "Human pineal physiology and functional significance of melatonin". *Front. Neuroendocrinol.* 25, 177-195, **2004**.
60. Mittler R. "Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance". *Trends. Plant Science*, 7.9, 405-410, **2002**.
61. Mohan IK and Das UN. "Oxidant stress, antioxidants and essential fatty acids in systemic lupus erythematosus". *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 57,193-198, **1997**. Citado en McCord, **2000**.
62. Moncada S., Palmer R.M. and Higgs E.A. "Nitric oxide: Phlysiology, pathophysiology, and pharmacology". *Pharmacol Rev.* 43,109-142 **1991**.
63. Montilla-López P, Muñoz-Agueda MC, Feijoo López M, Muñoz-Castañeda JR, Bujalance-Arenas I and Tunez-Finana I. "Comparison of Melatonin versus Vitamin C on oxidative stress and antioxidant enzyme activity in Alzheimer's disease induced by okadaic acid in neuroblastoma cells". *Eur. J. Pharmacol.* 451(3):237-243, **2002**.
64. Naranjo R. EB. "Análisis conductual y electrofisiológico de las interacciones entre la melatonina y los sistemas gabaérgicos cerebrales". Tesis Doctoral Facultad de Medicina UNAM, **1991**.
65. Omar BA and McCord JM. "Intestinal equilibration of superoxide dismutase correlates with its protective effect in the isolated rabbit heart." *J. Mol. Cell. Cardiol.* 23,149-159, **1991**.
66. Pablos MI, Reiter RJ, Ortiz GG, Guerrero JI, Sewerynek E. "Rhythms of glutathione peroxidase and glutathione reductase in brin of chick and their inhibition by light". *Neurochem. Int. Lett.* 18: 49, **1999**.
67. Pahlavani MA, Vargas DA, Evans TR, Shu JH and Nelson JF. "Melatonin fails to modulate immune parameters influenced by calorie restriction in aging Fischer 344 rats". *Exp. Biol. Med (Maywood)*. Vol. 3, 201-207, **2002**.
68. Pierrefiche G, Laborit H "Oxygen radicals, melatonin and aging". *Exp. Gerontol.* 30: 213 **1995**.
69. Prevent P. "Anatomy of the pineal gland of mammals". *The Pineal Gland*, Relkin R. (ed) New York, USA, 98-117, **1983**.



70. Pulido R, Jiménez-Escrig A, Orensanz L, and Saura-Calixto F. "Study of plasma antioxidant status in Alzheimer's disease". *Eur. J. Neurol.* 12(7):531-535, **2005**.
71. Quay WB. "Volumetric and cytologic variation in the pineal body of *Peromyscus leucopus* (Rodentia) with respect to sex, captivity and day-length". *J. Morph.* 98, 471-495, **1995**.
72. Ragusa RJ, Chow CK and Porter JD. "Oxidative stress as a potential pathogenic mechanism in an animal model of Duchenne muscular dystrophy". *Neuromuscul. Disord.* 7, 379-386, **1997**.
73. Ramírez I and Lílido N. "Glándula Pineal: el tercer ojo en ruminantes". *Mundo Pecuario*, Universidad de los Andes-Trujillo, Vol. I, 3:49-51, **2005**.
74. Ravindra T, Lukshmi NK and Ahuja YR. "Melatonin in pathogenesis and therapy of cancer". *Indian J. Med. Sci.* 60:523-535. **2006**.
75. Ray M, Mediratta PK, Mahajan P and Sharma KK. "Evaluation of the role of melatonin in formalin-induced pain response in mice". *Indian J. Med. Sci.* 58(3):122-130, **2004**.
76. Redins GM, Redins CA and Novaes JC. "The Effect Of Treatment with Melatonin upon the ultrastructure of the Mouse Pineal Gland: A Quantitative Study". *Braz. J. Biol.*, 61(4): 679-684, **2001**.
77. Reiter RJ, Acuña-Castroviejo D, Tan DX and Burkhardt S. "Free radical-mediated molecular damage. Mechanisms for protective actions of melatonin in the central nervous system". *Ann. NY. Acad. Sci.* 939:200-215, **2001**.
78. Reiter RJ Tan DX, Mayo JC, Sainz RM, León J, Czarnocki Z. "Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanism and pathophysiological implications in humans". *Acta Biochim. Pol.* 50:1129, **2003**.
79. Rosen GM: Britigan BE, Halpern HJ and Pou S. "Free Radicals. Biology and Detection by Spin Trapping" *Oxford University Press*. Oxford, New York, USA. Chapter 3, pp. 83-109, **1999**.
80. Rüdiger Hardeland, S.R. Pandi-Perumal, Daniel P. Cardinali. "Melatonin". *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 38(3):313-316, **2006**.
81. Salazar JR, "Estudio de la actividad Antioxidante de *Myrtillocactus geometrizans*". Tesis de Licenciatura Facultad de Química, UNAM, **2003**.



-
82. Shah SV. "The role of reactive oxygen metabolites in glomerular disease". *Annu. Rev. Physiol.* 57, 245-262, **1995**.
83. Sies H. "Oxidative stress: introduction". en: Sies H. Editor. *Oxidative Stress, Oxidants and antioxidants*, Academic Press, San Diego, CA, XV-XXII. R. Pandi-Perumal, V. Srinivasan, G.J.m. Maestroni, D.P. Cardinali, B. Poeggeler and R. Hardeland. "Melatonin Nature's most versatile biological signal". *FEBS J.* 273, 2813-2838, **2006**.
84. Simonneaux V and Ribelayga Ch. "Generation of the Melatonin Endocrine Message in Mammals: A Review of the Complex Regulation of Melatonin Synthesis by Norepinephrine, Peptides, and Other Pineal Transmitters". *Pharmacol. Rev.* 55, (2):325-395, **2003**.
85. Skene DJ and Arendt J. "Human circadian rhythms: physiological and therapeutic relevance of light and melatonin". *Ann. Clin. Biochem.* 43 (Pt 5):344-353, **2006**.
86. Srinivasan RJ, Pandi-Perumal SR, Maestroni GJ, esquifito AI, Hardeland R and Cardinali DP. "Role of melatonin in neurodegenerative diseases". *Neurotox. Res.* 7(4):293-318, **2005**.
87. Szmuskowicz AW and Heinzelman RV. "Synthesis of N-acetilmethoxytryptamine". *J. Org. Chem.* 25:287, **1960**.
88. Tan DX, Chen LD, Poeggeler B, Manchester LC and Reiter RJ. "Melatonin: a potent, endogenous hydroxyl radical scavenger". *Endocrine J.* 1:57, **1993**.
89. Tan DX, Manchester LC, Reiter RJ, Plumier BF, Hardies LJ, Weintraub ST, Vijayalaxmi and Shepard AM. "A novel melatonin metabolite, cyclic 3-hydroxymelatonin: a biomarker of in vivo hydroxyl radical generation". *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 253:614, **1998**.
90. Tan DX, Manchester LC, Teiter RJ, Plummer BL, Limson J, Weintraub ST and Qi W. "Melatonin directly scavenges hydrogen peroxide: a potentially new metabolic pathway of melatonin biotransformation". *Free Radic. Biol. Med.* 29:1177, **2000**.
91. Tan DX, Reiter RJ, Manchester LC, Yan MT, El-Sawi M, Sainz RM, Mayo JC, Kohen R, Allegra M and Hardeland R. "Chemical and physical properties and potential mechanism: melatonin as a broad-spectrum antioxidant and free radical scavenger". *Curr. Topics Med. Chem.* 2:181, **2002**.
-



92. Tan DX, Reiter RJ, Chen LD, Poeggeler B, Manchester LC and Barlow-Walden LR. "Both Physiological and Pharmacological Levels of Melatonin Reduce DNA Adduct Formation Induced by the Carcinogen Safrole". *Carcinogenesis* 15(2):215-218, **1994**.
93. Toshniwal PK and Zarling EJ. "Evidence for increased lipid peroxidation in multiple sclerosis". *Neurochem. Res.* 17, 205-207, **1992**.
94. Tunez I, Muñoz MC, Villavicencio MA, Medina FJ, De Prado EP, Espejo I, Barcos M, Salcedo M, Feijoo M and Montilla P. "Hepato- and Neurotoxicity Induced by Thioacetamide: Protective Effects of Melatonin and Dimethylsulfoxide". *Pharmacol. Res.* 52(3):223-228, **2005**.
95. Urata Y, Honma S, Goto S, Todoroki S, Ueda T, Cho S, Honma K and Kondo T. "Melatonin induces gamma-glutamylcysteine synthase mediated by activator protein-1 in human vascular endothelial cells". *Free Radic. Biol. Med.* 27: 838, **1999**.
96. Valsecia M and Malgor L. "Farmcología de la melatonina" Capítulo 16 http://med.unne.eduar/catedras/farmacologia/temas_farma/vol5/16_melatonin_a.pdf.
97. Von Bernhardt R, Ramirez G, De Ferrari GV and Inestrosa NC. "Acetylcholinesterase induces the expresión of the β -amyloid precursor protein in Glia and activates Glial cells". *In Culture. Neurobiol. Dis.* 14(3):447-457, **2003**.
98. Von Gall C, Stehle JH and Weaver DR. "Mammalian melatonin receptors: molecular biology and signal transduction." *Cell. Tissue. Res.* 309:151-162, **2002**.
99. Wallace RB, Altman J, Das GD. "An autoradiographic and morphological investigation of the postnatal development of the pineal body". *Am. J. Anat.* (126) 175-183, **1969**.
100. Wallaert B, Aerts C, Gressier B and Voisin C. "Oxidative inactivation of alpha(1)-proteinase inhibitor by alveolar epithelial type II cell". *J. Appl. Physiol.* 75, 2376-2382, **1993**.
101. Warren KR, Yabroff DM, Mandel KJ, Johnson and Ward P.A. "Role of O_2^- I neutrophil recruitment into sites of dermal and pulmonary vasculitis". *Free Radical Biol Med* 8, 163-172, **1990**.
102. Welsh MG. "Pineal Calcification: Structural and Functional Aspects". *Pineal Res. Rev.* 3:41-68, **1985**.



-
103. Witt-Enderby P and Aabd Li PK. "Melatonin receptors and ligands". *Vitam. Horm.* 58:321-354, **2000**.
 104. Wood S, Quinn A, Troupe S, Kingsland C, Lewis-Jones I. "Seasonal variation in assisted conception cycles and the influence of photoperiodism on outcome in *in vitro* fertilization cycles". *Hum Fertil (Camb)*, 9(4):223-9, **2006**.
 105. Wurtman RJ. "Age-related decreases in Melatonin secretion: clinical consequences". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85(6):2135-2136, **2000**.
 106. Wurtman RJ, Axelrod J and Kelly DE. "The Pineal Gland". *Sci. Am.* 213:50-60, **1965**.
 107. Wurtman RJ, Axelrod J and Phillips LS. "Melatonin synthesis in the pineal gland: Control by the light". *Science*, 142:1071-1073, **1963**.
 108. Zisapel N. "Circadian rhythm sleep disorders: pathophysiology and potential approaches to management". *CNS Drugs*. 15(4):311-28, **2001**.
 109. <http://es.wikipedia.org/wiki/Antioxidante>
 110. <http://www.melatol.com.ar/informa/antioxi/antioxi.html>
 111. <http://www.nutrivea-es.com/melatonina.htm>



Referencias de imágenes

- I. Arendt J. "Melatonin and the pineal gland: influence on mammalian seasonal and circadian physiology". *Rev. Reproduction* 3, 13-22, **1998**.
- II. Chen S. "Older people spend less time asleep". *Geriatrics and Aging* 2(2):12-19, **1994**.
- III. Conn Michael P. "Neuroendocrinology in Physiology and Medicine". Cap. 23 Influence of Light and Pineal Gland on Biological Rhythms Human Press EUA 405-420, **2000**.
- IV. Houssay BA, "Fisiología de Houssay". Pag. 632, *El Ateneo*, Argentina, **2000**.
- V. Jara Albarran A. "Endocrinología" edit., *Médica Panamericana España* pp30, **2003**.
- VI. Martín M, Macías M, León J, Escames G, Khaldy H and Acuña-Castroviejo D. "Melatonin increases the activity of the oxidative phosphorylation enzymes and the production of ATP in rat brain in liver mitochondrial". *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 34:348, **2002**.
- VII. Naranjo R. EB. "Análisis conductual y electrofisiológico de las interacciones entre la melatonina y los sistemas gabaérgicos cerebrales". Tesis Doctoral Facultad de Medicina UNAM, **1991**.
- VIII. "Nervous System and Sensory Organs, Color Atlas of Human Anatomy Kahle", *Color Atlas of Human Anatomy*, Vol. 3 © 2003 Thieme.
- IX. Reiter RJ. "Anatomy of the pineal gland of the mammals". *The Pineal*, vol. 6 Reiter RJ (ed) 14-40, **1980**.
- X. <http://anatpat.unicamp.br/melatonina1+.jpg>
- XI. www.crono.icb.usp.br/glandpineal.htm
- XII. <http://www.imagick.org.br/zbolemail/Bol04x01/BE04x3.html>
- XIII. <http://www.xray.cz/setkani/abst2004/sovova.htm>

