



**FACULTAD DE MEDICINA**  
**UNIVERSIDAD DE CANTABRIA**

**GRADO EN MEDICINA**  
**TRABAJO FIN DE GRADO**

**Acciones neuroprotectoras de la melatonina**

**Neuroprotective actions of melatonin**

**Autora: Dña. Patricia González Feito**

**Directora: Dña. Noemí Rueda Revilla**

**Santander, Junio 2018**

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN .....	1
ABSTRACT.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	2
2. OBJETIVOS.....	5
3. METODOLOGÍA .....	5
4. ACCIONES DE LA MELATONINA .....	7
4.1 ACCIÓN ANTIOXIDANTE .....	7
4.2 ACCIÓN ANTIAPOPTÓTICA .....	9
4.2.1 Mecanismos de muerte celular e implicación de la melatonina en los mismos.....	10
4.2.2 Moléculas implicadas en las vías de apoptosis: Papel de la melatonina sobre estas moléculas .....	11
4.3 ACCIONES ANTIINFLAMATORIAS.....	13
4.4 OTRAS ACCIONES .....	15
4.4.1 Acción sobre la neurogénesis.....	15
4.4.2 Acción sobre la neuropatología amiloide.....	16
5. LA MELATONINA Y SUS ACCIONES NEUROPROTECTORAS EN LAS ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS.....	18
5.1 ENFERMEDAD DE ALZHEIMER .....	18
5.1.1 Apoptosis en la enfermedad de Alzheimer .....	18
5.1.2 Neuroinflamación y estrés oxidativo en la enfermedad de Alzheimer ..	19
5.1.3 El tratamiento con melatonina en la enfermedad de Alzheimer .....	21
5.2 ENFERMEDAD DE PARKINSON .....	22
5.3 ENFERMEDAD DE HUNTINGTON .....	25
5.4 ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA.....	26
6. CONCLUSIONES .....	27
7. BIBLIOGRAFÍA.....	29

## RESUMEN

La melatonina posee diversas acciones antioxidantes, ya que actúa eliminando radicales libres, regula la expresión y actividad de enzimas antioxidantes y pro-oxidantes, favorece la cadena de transporte de electrones en las mitocondrias, aumenta la producción del tripéptido glutatión y disminuye el daño oxidativo, reduciendo las proteínas carboniladas y evitando la peroxidación de los lípidos de membrana. También tiene acciones anti-apoptóticas, ya que inhibe la vía intrínseca de la apoptosis, promoviendo la expresión de proteínas anti-apoptóticas y disminuyendo aquellas pro-apoptóticas, y activa señales de supervivencia celular. Además, tiene acciones antiinflamatorias disminuyendo la activación de las células microglía, aumentando las citoquinas anti-inflamatorias y reduciendo las pro-inflamatorias. Por último, la melatonina tiene también otras acciones neuroprotectoras: promueve la neurogénesis, aumentando la proliferación, diferenciación y supervivencia neuronal; y reduce la neuropatología amiloide, disminuyendo la formación de placas seniles y ovillos neurofibrilares. Esta revisión recoge el conocimiento actual a cerca de las acciones neuroprotectoras de la melatonina en enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica y la enfermedad de Huntington. Diversos estudios indican que la melatonina podría tener cierto valor terapéutico en el tratamiento de las mismas.

**Palabras clave:** melatonina, neuroprotección, estrés oxidativo, apoptosis, neuroinflamación, enfermedades neurodegenerativas.

## ABSTRACT

Melatonin has antioxidant, anti-apoptotic and anti-inflammatory properties. Regarding the antioxidant action, it eliminates free radicals and regulates the expression and activity of antioxidant and pro-oxidants enzymes, favors the chain of electron transport in mitochondria, increases the production of the tripeptide glutathione, and also decreases the oxidative damage reducing the protein and lipid damage. Melatonin also has anti-apoptotic properties because it inhibits the intrinsic pathway of apoptosis, promoting anti-apoptotic proteins and decreasing pro-apoptotic proteins, and activates cell survival signals. Furthermore, it has anti-inflammatory actions by decreasing the activation of microglia cells, increasing anti-inflammatory cytokines and reducing pro-inflammatory cytokines. Finally, it also has other neuroprotective actions: promotes hippocampal neurogenesis, increasing proliferation, differentiation and neuronal survival; and reduces the amyloid neuropathology, decreasing the formation of senile plaques and neurofibrillary tangles. This review includes the actual knowledge about the neuroprotective actions of melatonin in neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, amyotrophic lateral sclerosis and Huntington's disease.

Several studies indicate that melatonin may have some therapeutic value in the treatment of these diseases.

**Key words:** melatonin, neuroprotection, oxidative stress, apoptosis, neuroinflammation, neurodegenerative diseases.

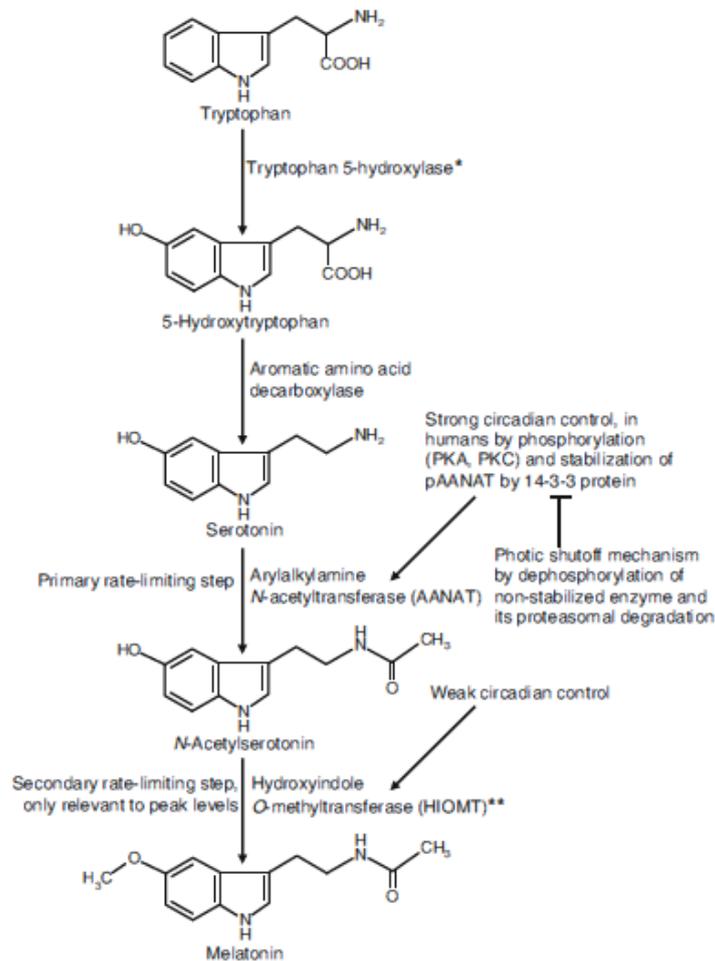
## 1. INTRODUCCIÓN

La melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) es una hormona con propiedades neuroprotectoras, antiinflamatorias y antioxidantes, sintetizada por la glándula pineal. Pero además, en los mamíferos, los macrófagos, los linfocitos, los astrocitos, las células enterocromafines de la mucosa gástrica, los trofoblastos de la placenta, la piel, la retina y otras áreas del cerebro, también tienen la capacidad de sintetizarla, aunque en estos otros sitios se libera muy poca cantidad o sólo en respuesta a un estímulo específico (1).

La melatonina es sintetizada a través de la serotonina mediante dos pasos:

El primero es la N-acetilación por la arylalkylamine (AANAT) para formar N-acetilserotonina. El fuerte aumento en la actividad nocturna y la disminución rápida al inicio de la luz de AANAT, es considerado el principal fenómeno de regulación que controla el inicio y el fin de la síntesis de melatonina (2).

Como se muestra en la figura 1, el segundo paso es la metilación de la N-acetilserotonina para formar melatonina. Esta reacción está catalizada por la enzima hydroxyindole O-methyltransferase (HIOMT), que es la responsable de la amplitud de los niveles de melatonina durante la oscuridad (3,4).



**Figura 1: Esquema de la formación de la melatonina.** \* En varias especies no mamíferas, la triptófano 5-hidroxilasa puede actuar como una enzima limitante de la velocidad. En otras zonas del organismo donde se produce melatonina además de en la glándula pineal, AANAT parece ser reemplazado por otras N-acetiltransferasas menos específicas (NATs). Los complejo formado por un dímero pAANAT con 14-3-3 proteínas es moderadamente estable. Tras su disociación, pAANAT se defosforila fácilmente. \*\* Nombre alternativo: acetilserotoninametiltransferasa (ASMT). De nuevo, la posibilidad de O-metilación por otras O-methyltransferasas menos específicas se ha discutido para algunos sitios extrapineales (2).

La luz, actuando a través del ojo humano, tiene un efecto clave en los ritmos de biosíntesis de la melatonina. La ruta neuronal a través de la cual la luz controla la secreción de melatonina es el circuito neuronal "retina-tracto retinohipotalámico-núcleo supraquiasmático-hipotálamo periventricular-ganglio cervical superior-nervios carotídeos internos-glándula pineal". Por la noche, la norepinefrina liberada por las terminaciones simpáticas activa los  $\beta$ -adrenoreceptores unidos al sistema adenilatociclasa-cAMP, con ayuda de la activación  $\alpha_{1B}$ -adrenérgica de la fofolipasa C $\beta$  se incrementa el Ca<sup>2+</sup>, la proteinkinasa C y la calmodulina (5). Estos procesos estimulan conjuntamente la síntesis y liberación de melatonina.

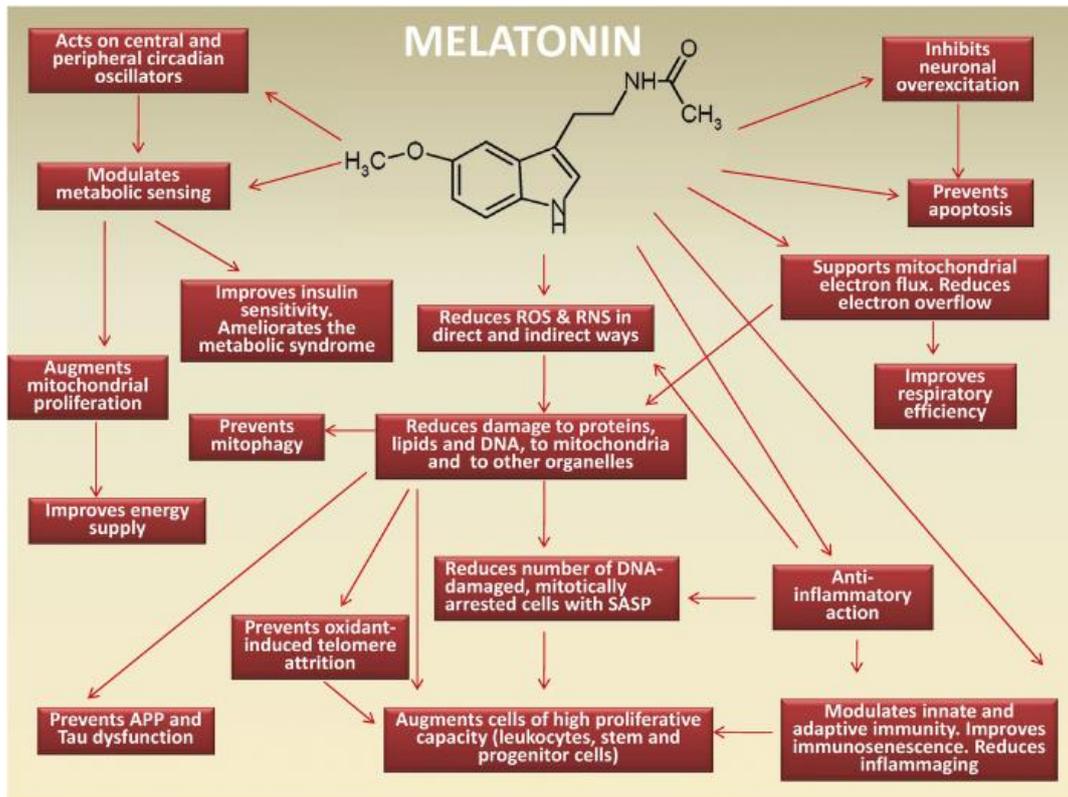
Una vez formada no es almacenada en la glándula pineal, sino que se difunde a la sangre y al líquido cefalorraquídeo. Esta capacidad de la melatonina para distribuirse por todo el organismo sugiere la participación de esta molécula en diferentes funciones celulares y tisulares.

La liberación rítmica de melatonina por la glándula pineal y la retina ayudan a coordinar los ritmos circadianos y los procesos neuroendocrinos mediante la activación de dos receptores acoplados a proteína G llamados MT<sub>1</sub> y MT<sub>2</sub> en el núcleo supraquiasmático, algunas áreas cerebrales y tejidos periféricos (2).

La melatonina participa en varias funciones fisiológicas del organismo, como la regulación del sueño, la función inmune, la inhibición de crecimiento tumoral, la regulación de la presión sanguínea, fisiología de la retina, la termorregulación, el control de los ritmos circadianos, también en la modulación de los estados de ánimo y en la eliminación de radicales libres. Mediadores pro y antiinflamatorios modulan su síntesis en la glándula pineal. Por lo tanto, el desequilibrio de la síntesis de melatonina puede predisponer al organismo a sufrir enfermedades inflamatorias y neurodegenerativas.

La etiología de la mayor parte de las enfermedades neurodegenerativas sigue siendo mayormente desconocida, sin embargo, en casi todas ellas suelen darse varios procesos que contribuyen a la neurodegeneración y a la pérdida de neuronas que están interrelacionados. Estos procesos son: el incremento de estrés oxidativo cerebral y la disfunción mitocondrial, el aumento de la neuroinflamación y el acúmulo de proteínas o péptidos anómalos que ejercen neurotoxicidad.

La melatonina es una moléculas con diversas acciones neuroprotectoras (figura 2) entre las que destaca su acción antioxidante, antiinflamatoria, promotora de la neurogénesis y anti-apoptótica. En el presente trabajo se describirán estas y otras acciones neuroprotectoras de la melatonina y se revisará su posible uso terapéutico en algunas enfermedades neurodegenerativas que tienen en común algunos de estos procesos que contribuyen a la neurodegeneración.



**Figura 2: esquema de las diferentes acciones neuroprotectoras de la melatonina (6).**

## 2. OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo es hacer una revisión bibliográfica sobre las diferentes acciones neuroprotectoras de la melatonina y su posible uso terapéutico en enfermedades neurodegenerativas, que tienen en común diversos mecanismos patológicos como el estrés oxidativo cerebral, la neuroinflamación, la disfunción mitocondrial, el aumento de la muerte neuronal y el acúmulo de proteínas anómalas que causan la muerte neuronal. Dado que la melatonina es una molécula inocua, se podría emplear en el tratamiento de estas patologías.

## 3. METODOLOGÍA

Se ha realizado una revisión bibliográfica de los artículos publicados desde 2010 a 2018 a cerca de las acciones neuroprotectoras de la melatonina y su implicación en los procesos neurodegenerativos.

Para llevar a cabo este trabajo se han establecido dos fases:

**1ª Fase:**

Comprende la búsqueda en las bases de datos Pubmed, Medline y Wiley Online Library. Además, se revisaron las listas de referencias bibliográficas de los artículos incluidos para identificar artículos adicionales.

Como palabras clave se han utilizado: 1) Melatonina; 2) Neuroprotección; 3) Estrés oxidativo; 4) Neuroinflamación; 5) Apoptosis; 6) Neurogénesis; 7) Enfermedad de Alzheimer; 8) Enfermedad de Parkinson; 9) Esclerosis lateral amiotrófica; y 10) Enfermedad de Huntington. Todas buscadas de manera individual y también de forma combinada entre las mismas.

**2ª Fase:**

Clasificación y análisis de los artículos a través de los siguientes indicadores:

- Revista y año de publicación.
- Autores: número y titulación de los mismos.
- Resumen y contenido del artículo.

Para la realización de este trabajo, de todas las publicaciones relacionadas con las acciones neuroprotectoras de la melatonina se han seleccionado un total de once artículos, puesto que son los que se han publicado más recientemente y la información que contienen es la que más se adecúa a los objetivos del trabajo.

Los artículos incluidos fueron búsquedas bibliográficas y ensayos clínicos controlados. Todos ellos están publicados en inglés, a excepción de tres que están publicados en castellano.

El gestor bibliográfico "Mendeley" es el que ha sido usado para elaborar las referencias bibliográficas que figuran en el presente trabajo, citadas en estilo "Vancouver".

Durante la realización del trabajo se obtuvieron conceptos pertenecientes a otras publicaciones utilizados por los autores de los artículos usados en este trabajo, por ello constan 166 referencias bibliográficas en este escrito.

## 4. ACCIONES DE LA MELATONINA

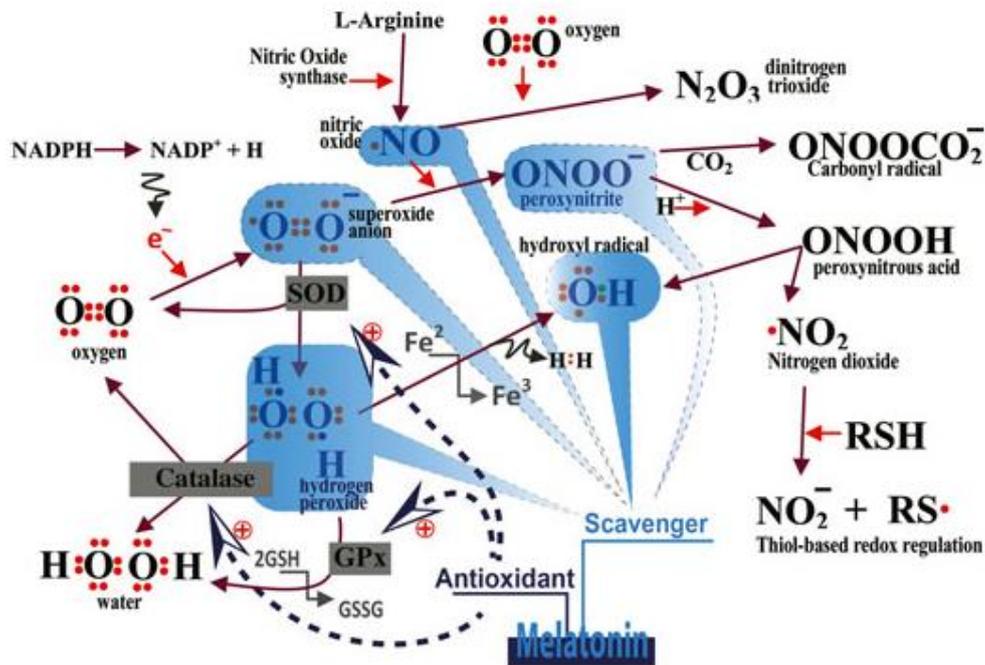
### 4.1 ACCIÓN ANTIOXIDANTE

El estrés oxidativo está implicado en la patogénesis de diversas enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Huntington y la esclerosis lateral amiotrófica, así como en otras condiciones patológicas como el ictus y el trauma cerebral.

La melatonina tiene la mayoría de las características de un antioxidante ideal, gracias a su extensa distribución por el cuerpo, el amplio espectro de sus propiedades antioxidantes, sus propiedades anfipáticas, la acción antioxidante de sus metabolitos y su baja toxicidad (2).

Estudios *in vitro* e *in vivo*, realizados en cultivos neuronales y en diversos modelos animales de diferentes neuropatologías, han mostrado que la melatonina tiene notables acciones antioxidantes, entre las que destacan la eliminación de radicales orgánicos y de especies reactivas del oxígeno (ROS), la mejoría de la capacidad antioxidante de las células, mediante la estimulación de la síntesis de enzimas antioxidantes como la superóxidodismutasa (SOD), la glutatión peroxidasa (GPx), y la glutatión reductasa (GR), el aumento de la producción de glutatión (GSH), y la atenuación de la formación de radicales libres por las neuronas, los astrocitos y las células de la microglía. Además, también disminuye el daño oxidativo evitando la peroxidación de los lípidos de membrana (7).

Gracias a su anillo aromático indol, la melatonina dona electrones a diversos radicales libres para posteriormente poder eliminarlos como el radical hidroxilo, el peróxido de hidrógeno, el ácido hipocloroso, el oxígeno libre, el radical anión superóxido, el óxido nítrico, y el anión peroxinitrito (figura 3).



**Figura 3: Acciones antioxidantes de la melatonina.** Principales vías oxidantes y papel de la melatonina como antioxidante (flechas azules discontinuas), promoviendo la actividad de enzimas antioxidantes. A su vez, la melatonina juega un papel importante en la eliminación de los radicales libres derivados de la actividad metabólica (globos azules) (8).

La interacción de melatonina con radicales libres produce la escisión oxidativa del anillo de pirrol, dando N1-acetil-N2-formil-5 metoxiquinuramina (AFMK), y esta kinuramina puede donar dos electrones a diferentes potenciales (456 y 668 mV, respectivamente) para funcionar como una molécula reductora capaz de eliminar especies reactivas y proteger macromoléculas contra el daño oxidativo. Otra desformilación de AFMK por la acción de las enzimas aril amina formamidasa o hemoperoxidasa produce N1-acetil-5-metoxiquinuramina (AMK), que, además de su capacidad para reaccionar con diversos radicales libres oxidantes y nitrosantes, también puede destruir los radicales carbonato y peróxido, funcionando, por tanto, como un antioxidante (8).

La melatonina exhibe un sitio de unión de baja afinidad a una quinono óxido reductasa citosólica 2 (QR2), también conocida como MT3. Esta enzima, como cualquier otra quinona, tiene la capacidad de transformar sus sustratos en compuestos más reactivos que pueden causar daño celular. Una vez que la melatonina se une a su sitio activo, la enzima produce menos enlaces de hidrógeno y contactos hidrofóbicos, lo que disminuye su reactividad (8).

Por otro lado, el papel antioxidante de la melatonina también influye en la homeostasis mitocondrial. Se ha visto que la administración de melatonina contrarresta de manera eficaz el daño oxidativo del ADN mitocondrial y restablece el sistema de control

respiratorio de las mitocondrias, al evitar que disminuya la actividad de los complejos I y IV (9).

La síntesis de ATP por la cadena respiratoria mitocondrial es el resultado de un potencial de protones generado por la cadena de transporte de electrones (10). Aunque lo ideal sería que todo el oxígeno se redujera a agua a través de una reacción de reducción de 4 electrones impulsada por el Complejo IV mitocondrial, en condiciones normales un porcentaje relevante de oxígeno se reduce mediante la separación de electrones individuales, y este proceso terminaría en la formación de radicales libres. La administración de melatonina incrementa la actividad de los complejos mitocondriales I y IV de manera tiempo-dependiente en el tejido cerebral (11). Ésta interactúa con los complejos de la cadena de transporte de electrones donando y aceptando los mismos, incrementando de esta manera su flujo.

Esta propiedad de favorecer la cadena de transporte electrónico, que no se ha visto que ocurra con ninguna molécula antioxidante (con la excepción de la ubiquinona), hace que la melatonina pueda participar en el transporte de electrones y a su vez actuar como antioxidante (11).

La modulación del flujo de electrones mediada por la melatonina también se puede explicar por otros mecanismos, incluyendo el control directo del mismo en el complejo I mitocondrial, la prevención de la interrupción del flujo causada por ROS y por las especies reactivas del nitrógeno (RNS), y la síntesis de *nov* de proteínas que participan en la cadena respiratoria (11).

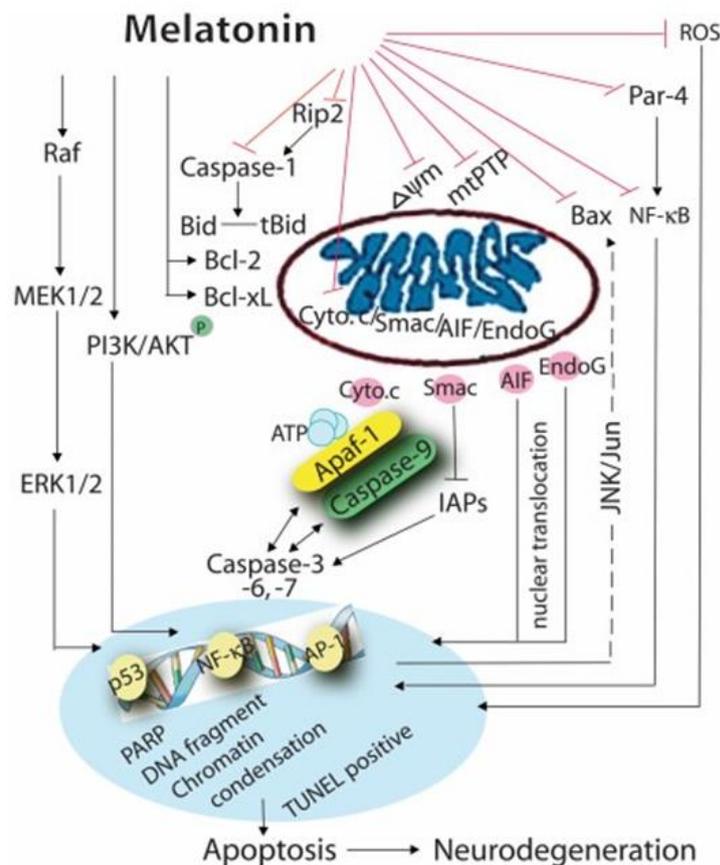
Por último, también han sido descritos varios efectos antioxidantes secundarios, basados en el aumento de producción de enzimas antioxidantes, y la reducción de aquellas pro-oxidantes. Un ejemplo de los mismos viene de la mano de las moléculas GPx y GR, en respuesta de GPx se incrementa GSSG (la forma oxidada de GSH). La melatonina contribuye a mantener los niveles normales de GSH (2).

## 4.2 ACCIÓN ANTIAPOPTÓTICA

Actualmente también existen muchas evidencias que demuestran que la melatonina también ejerce neuroprotección gracias a sus acciones anti-apoptóticas.

En la neurodegeneración hay dos tipos de muerte celular: apoptosis y necrosis. La apoptosis es un proceso de muerte celular programada que ocurre de manera fisiológica, mientras que la necrosis es causada por factores externos como la infección, las toxinas o traumatismos.

4.2.1 Mecanismos de muerte celular e implicación de la melatonina en los mismos  
En la apoptosis hay dos vías principales la vía intrínseca y la extrínseca. Parece que la melatonina ejerce sus efectos neuroprotectores mediante diversas acciones anti-apoptóticas que involucran principalmente la vía intrínseca y no la extrínseca. Por ello nos centraremos sólo en los efectos que ejerce la melatonina solo sobre la vía intrínseca (12) (figura 4).



**Figura 4: Esquematización de la posible inhibición de la vía intrínseca de muerte celular y de la activación de la vía de supervivencia por parte de la melatonina (12).**

La mitocondria es considerada como el lugar donde convergen diferentes vías de señalización apoptótica y que, gracias a la capacidad de regulación de la permeabilidad de sus membranas, controla la liberación al citoplasma de señales capaces de activar cascadas proteicas que conducen a la muerte celular (13).

El potencial de membrana mitocondrial ( $\Delta\Psi_m$ ) refleja el rendimiento de la cadena de transporte de electrones y puede indicar un trastorno patológico. En las enfermedades neurodegenerativas se ha visto que su disipación conduce a la muerte neuronal. El poro de permeabilidad transitoria mitocondrial (PPTM) es un complejo multiprotéico que se forma en las zonas de unión entre las membranas interna y externa de la mitocondria.

Cuando un estímulo apoptótico alcanza la mitocondria, los diferentes componentes proteicos pueden ensamblarse formando un poro cuya apertura produce la permeabilización de las membranas mitocondriales, activándose diferentes rutas de ejecución apoptóticas (13). La melatonina previene la despolarización de la misma y evita que PPTM se abran de manera irreversible, evitando de esta manera que se active la cascada de la apoptosis (12). Se ha visto que la inhibición de PPTM por parte de esta indolamina es debido a su interacción con la cardiolipina, un fosfolípido que se encuentra en la membrana mitocondrial interna. Ésta, además de su función manteniendo la integridad de la membrana, mejora la eficiencia energética. Su oxidación causa la apertura de PPTM. Alteraciones en la cardiolipina se relacionan con diversas enfermedades neurodegenerativas. La melatonina previene la oxidación de la cardiolipina, atenuando la apoptosis en condiciones patológicas y en el envejecimiento (14).

#### 4.2.2 Moléculas implicadas en las vías de apoptosis: Papel de la melatonina sobre estas moléculas

Las moléculas pro-apoptóticas mitocondriales como el citocromo C, Smac (second mitochondrion-derived activator of caspase)/Diablo, AIF (apoptosis inducing factor), y Endo G (endonuclease G), cuando se liberan dentro del citoplasma mitocondrial inducen las vías de muerte mitocondrial caspasa-dependiente e independiente en las enfermedades neurodegenerativas (12).

La activación de la caspasa 1 es un evento temprano en las enfermedades neurodegenerativas (15,16). Su receptor interactúa con la proteína 2 (Rip2) estimulando a la caspasa 1 para activar IL-1 $\beta$ . La inhibición de la pro-IL-1 $\beta$  y la liberación de la IL-1 $\beta$  madura están asociadas con la inhibición de la apoptosis en la neurodegeneración. La activación de Rip2 ha sido descrita en la enfermedad de Alzheimer, Huntington y en el ictus (12).

Por otra parte, prostate apoptosis response-4 (Par-4) induce cambios en la permeabilidad de la membrana mitocondrial promoviendo su disfunción (17). Además, aumenta la secreción de  $\beta$ -amiloide y la degeneración neuronal, y está aumentada en los pacientes con enfermedad de Alzheimer y en los que padecieron un ictus (18,19).

El proceso de apoptosis requiere tanto síntesis de RNS como de proteínas, así como la depleción de factores tróficos. Por otra parte, se ha visto que existen factores anti-apoptóticos que rescatan a las neuronas en este tipo de muerte celular, entre los que se encuentra la familia de Bcl-2 (20). No obstante, los miembros de la familia Bcl-2 incluye moléculas tanto pro-apoptóticas (Bax, Bak, Bok, Bid, Bik, Blk, Hrk, BNIP3, y BimL) que promueven la liberación del citocromo c, como anti-apoptóticas (Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w, Mcl-1, y A1). Bcl-2 es capaz de bloquear la apoptosis previniendo la formación de un poro de permeabilidad transitoria mitocondrial y, por tanto, la liberación del enzima mitocondrial citocromo c, el cual representa el punto final y de no retorno de la apoptosis (12).

En los mecanismos apoptóticos que participan en las enfermedades neurodegenerativas también actúa la familia de las MAP kinasas, con tres miembros: ERK, p38 MAPK, y JNK. La vía JNK ha sido observada en enfermedades neurodegenerativas principalmente activando la apoptosis, y parcialmente inhibiendo la muerte celular (21,22). El daño en el ADN causa su activación, lo que contribuye a la transducción mitocondrial de Bax (molécula pro-apoptótica que pertenece a la familia de Bcl-2, como se ha mencionado antes). La ausencia de JNK causa un defecto en la vía de señalización mitocondrial de muerte celular, incluyendo el fallo en la liberación del citocromo c (23).

Durante la progresión de las enfermedades neurodegenerativas, las señales de supervivencia celular son activadas por los agentes neuroprotectores, que incluyen la vía P13k/Akt, Bcl-2, NF- $\kappa$ B y MAPK (12). P13k/Akt tiene un papel esencial en la supervivencia neuronal. Una vez que Akt es activado, fosforila moléculas implicadas en la supervivencia celular, incluyendo los miembros de la familia Bcl-2, lo cual inhibe la apoptosis. Estas proteínas anti-apoptóticas reprimen las vías mitocondriales de muerte celular a través de la heterodimerización. La eliminación de las señales neuroprotectoras de la familia Bcl-2 contribuye directamente a la pérdida neuronal en las enfermedades neurodegenerativas (24).

Los efectos antiapoptóticos de la melatonina en parte son ejercidos a través de la modulación de proteínas relacionadas con Bcl-2. Varios estudios han publicado que la melatonina disminuye la apoptosis promoviendo proteínas anti-apoptóticas e inhibiendo las pro-apoptóticas (14). La administración de la indolamina causa una disminución de Bax, y la sobreexpresión de Bcl-2 y Bcl-Xl. *Radogna et al.* (25) demostraron que la sobreexpresión y relocalización de Bcl-2 inducida por la melatonina parece ser que está parcialmente mediada por los receptores de la melatonina MT<sub>1</sub> y MT<sub>2</sub>. Otro estudio del mismo grupo de autores muestra que la melatonina también promueve la translocación de Bax en la mitocondria, reduciendo la apoptosis, a través de una vía calmodulina-dependiente (26). Estos estudios demuestran que los efectos de la melatonina en las proteínas pro- y anti-apoptóticas son mediados por múltiples mecanismos.

Se ha visto también que la melatonina inhibe la activación de la caspasa 1 y la liberación de IL-1 $\beta$  madura en las neuronas corticales primarias. El tratamiento con esta indolamina disminuye significativamente el número de neuronas TUNEL positivas (técnica que indica la cantidad de células que han entrado en apoptosis) (12).

El papel neuroprotector de la melatonina a su vez está mediado por la mejoría de la vía de supervivencia PI3K/Akt, protege del daño a las células neuronales mejorando la activación de Akt y de su diana, Bad (como se ha explicado antes, su fosforilación inhibe la apoptosis) (27). Inhibe las señales apoptóticas previniendo el daño causado por Raf-1, MEK1/2 y ERK1/2 disminuyendo la fosforilación de las mismas (se ha visto que ésta se encuentra implicada en la neurodegeneración). Y además previene la sobreexpresión de Par-4 inhibiendo de este modo la activación de NF- $\kappa$ B, esta vía induce la expresión de

proteínas de estrés, enzimas antioxidantes y proteínas reguladoras de calcio, su activación no sólo induce la apoptosis, sino que también se ha visto que activa señales de supervivencia en la neurodegeneración (12).

### 4.3 ACCIONES ANTIINFLAMATORIAS

El término “inflammaging” hace alusión a la contribución de la inflamación durante la progresión de la edad (28-32). Así, el aumento de la neuroinflamación en el cerebro asociada a la edad contribuye en gran medida a la neurodegeneración que ocurre durante el envejecimiento. Además, también existe un aumento de los procesos neuroinflamatorios en diversas enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Huntington (33,34), la esclerosis lateral amiotrófica (35-37), la ataxia de Friedreich (38), la enfermedad de Parkinson (39-41), la degeneración frontotemporal (42,43) y en la enfermedad de Alzheimer (43-46), que provoca daño y/o muerte neuronal y, por tanto, contribuye al progreso de la enfermedad.

La diferencia fundamental entre un cerebro con inflamación debida a una infección y, un cerebro con enfermedad de Alzheimer, reside en que en ésta última muchos de los marcadores típicos de la inflamación están ausentes, mientras que otras características como la activación de la microglía, la liberación de citoquinas pro-inflamatorias (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-15, IL-18, y TNF- $\alpha$ ), la aparición de proteínas de fase aguda como la proteína C reactiva, y el reclutamiento de linfocitos están presentes (6).

La conexión entre el sistema inmune y el estrés oxidativo se ha explicado por un mecanismo recientemente descubierto basado en el “senescence-associated secretory phenotype (SASP)” que conduce a un nivel bajo de inflamación pero persistente mediante la liberación de citoquinas pro-inflamatorias, que activan a las células inmunes produciéndolo (6). Ese bajo grado de inflamación es observado en casi todos los trastornos neurodegenerativos.

La melatonina puede ejercer acciones pro-inflamatorias y antiinflamatorias ya que modula la liberación de citoquinas tanto pro-inflamatorias como antiinflamatorias, así como otros factores estimulantes del sistema inmune, y también puede activar directamente a los monocitos (47-49).

Esta indolamina promueve un bajo grado de inflamación, pero sobretodo antagoniza un alto grado de inflamación (6). Hay dos hipótesis acerca de este hecho: la primera dice que los efectos pro-inflamatorios son observados en condiciones basales, y que los antiinflamatorios son típicos en la inflamación de alto grado bajo condiciones experimentales. Por tanto según esta hipótesis, la melatonina es considerada como un

inmunomodulador que permite la estimulación del sistema inmune en respuesta, por ejemplo, a infecciones, y que, por otra parte, mitiga el daño severo causado por la inflamación de alto grado, disminuyendo las citoquinas pro-inflamatorias TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 y aumentando las citoquinas antiinflamatorias IL-4 e IL-10 (48). La segunda hipótesis, refiere que la melatonina sólo puede promover las fases tempranas de la inflamación, y que atenúa su continuación para evitar la cronificación de una enfermedad (50).

Diversos estudios, ponen de manifiesto que una de las múltiples acciones neuroprotectoras de la melatonina es atenuar la respuesta inflamatoria y, de este modo, evitar el aumento de la neuroinflamación durante el envejecimiento y la progresión de este proceso en diversas enfermedades neurodegenerativas. Además, la producción de melatonina disminuye con la edad y sus niveles son claramente menores en pacientes con diversas enfermedades neurodegenerativas (51). Se ha demostrado que la señalización vía NF- $\kappa$ B es la que controla la mayoría de los genes relacionados con el SASP y que está muy relacionada con los procesos de envejecimiento, también en el sistema nervioso central. La melatonina es una potente supresora de la expresión de NF- $\kappa$ B (52,53).

Una de las acciones antiinflamatorias más importantes de la melatonina es la disminución de la activación de las células microglía. La activación de la microglía y las células endoteliales hace que se liberen citoquinas pro-inflamatorias como TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , causando daño neuronal (54). El tratamiento con melatonina reduce los niveles de las citoquinas pro-inflamatorias TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  inducidos por el péptido  $\beta$ -amiloide en el cerebro de ratones experimentales (55), y también suprime la liberación de estas citoquinas por parte de la microglía (2).

También disminuye los niveles de IL-6, IL-8 e IL-12 bajo condiciones de alto estrés oxidativo, isquemia/reperfusión, trauma cerebral, shock hemorrágico y en la inflamación de alto grado, incluida la sepsis (49). Además, se deben tener en cuenta dos efectos antiinflamatorios adicionales: la expresión de la ciclooxigenasa-2 (COX-2) está regulada negativamente por la melatonina en los macrófagos a través de la vía NF- $\kappa$ B, de manera que disminuye los niveles de la misma (56-58). Esta vía de señalización parece estar implicada en la supresión de iNOS en macrófagos, un efecto observado en diversos órganos y células (59-61), especialmente en microglía y en los astrocitos (62,63).

## 4.4 OTRAS ACCIONES

### 4.4.1 Acción sobre la neurogénesis

Además de las acciones antioxidantes, anti-apoptóticas y antiinflamatorias, la melatonina favorece la neurogénesis, ejerciendo una función como un moduladora de la organización del citoesqueleto y, en consecuencia, del desarrollo de la polaridad morfofuncional en las neuronas (64). Esto implica que se diferencien dos compartimentos celulares: el dominio somatodendrítico y el axonal. El proceso de neuritogénesis surge a partir de la generación por parte de las células redondas de una o múltiples neuritas que poseen conos de crecimiento en su extremo distal. A continuación, una de las neuritas se alarga y se diferencia del axón. Las neuritas restantes se diferencian en dendritas y al final se lleva a cabo la polarización funcional y la formación de la sinapsis (65).

La melatonina tiene un efecto neuritogénico tanto *in vitro* como *in vivo* en líneas celulares de ratón. Los microfilamentos y los microtúbulos participan en la formación las neuritas y en su posterior alargamiento, en neuronas de ratón, la melatonina aumenta ambos procesos a través de la activación de la síntesis del citoesqueleto (66,67). Esta reorganización del citoesqueleto parece activarse por múltiples procesos de los que la melatonina forma parte:

- Inhibición directa de la calmodulina (68-71).
- Estimulación directa de la proteína quinasa C (72-74).
- Activación del receptor de melatonina MT<sub>1</sub>, que señala a través de dos proteínas G inhibitorias que disminuyen la actividad adenililciclase y una proteína G que activa la fosfolipasa C (74-77).

También se ha visto en cultivos organotípicos de hipocampo que la melatonina incrementa la formación de dendritas, así como su alargamiento y su complejidad, en las neuronas e interneuronas de la zona del hilus que forma parte del circuito trisináptico del hipocampo y que tiene un papel clave en la integración de la memoria espacial (78).

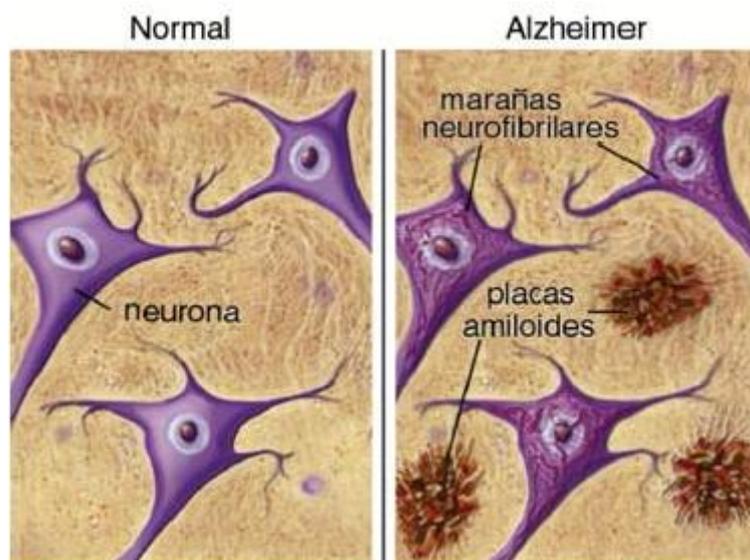
Además de favorecer la proliferación celular, la melatonina también interviene en la diferenciación y en la supervivencia neuronal. El factor neurotrófico derivado del cerebro y el factor neurotrófico derivado de células gliales son esenciales para la proliferación, diferenciación y supervivencia de las células madre neuronales, y también juegan un papel importante en la supervivencia y la función de las neuronas adultas, el aprendizaje, la memoria, y la plasticidad sináptica. La melatonina aumenta la expresión genética de estas dos moléculas adquiriendo así la capacidad de dirigir la diferenciación de las células madre neuronales en neuronas y no en astrocitos (64).

#### 4.4.2 Acción sobre la neuropatología amiloide

Los cerebros de los pacientes con la enfermedad de Alzheimer (EA) muestran dos lesiones características: las placas seniles y los ovillos neurofibrilares (79) (figura 5).

Las placas seniles están formadas por depósitos extracelulares insolubles que contienen productos del procesamiento de la proteína precursora del amiloide (APP), en su mayoría el péptido  $\beta$ -amiloide, y tienden a agregarse formando sábanas beta-plegada, que son tóxicas. Aún no está claro el mecanismo por el cual el péptido  $\beta$ -amiloide produce daño neuronal, se plantean mecanismos como la activación de la microglía, la inducción de la apoptosis, la activación de la respuesta inflamatoria, o dificultando la circulación debido al acúmulo de amiloide en capilares y arteriolas (79).

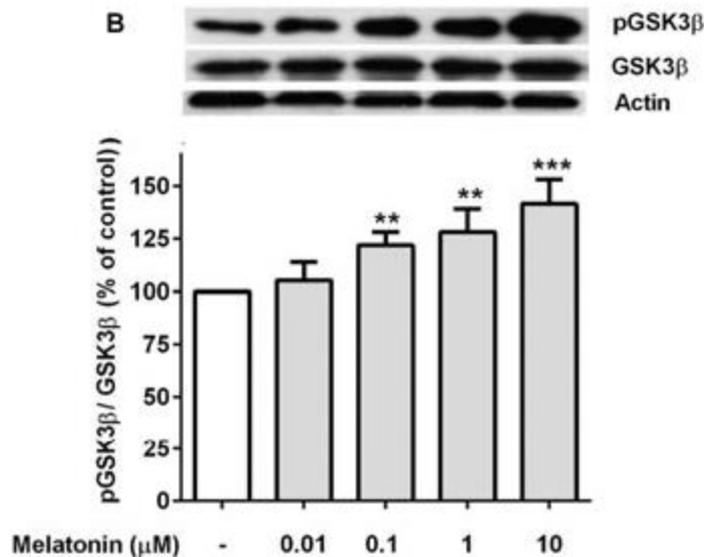
Los ovillos neurofibrilares están formados por filamentos helicoidales pareados, compuestos principalmente por la proteína asociada a microtúbulos (TAU) hiperfosforilada de forma anormal. La agregación de tau reduce su habilidad para estabilizar los microtúbulos, y llevaría eventualmente a la muerte neuronal (80).



**Figura 5: Alteraciones neuropatológicas en la enfermedad de Alzheimer.** Neuronas de un cerebro normal y de un cerebro con enfermedad de Alzheimer, en el que se ven las placas amiloides (formadas por la polimerización del péptido  $\beta$  amiloide), y marañas neurofibrilares (compuestos de la proteína tau hiperfosforilada de manera anómala) (79).

La glucógeno sintetasa quinasa-3 $\beta$  (GSK3 $\beta$ ), es otro elemento crítico involucrado en la regulación del procesamiento amiloidogénico de la APP, que sirve de enlace entre el amiloide y los ovillos neurofibrilares (81). La activación patológica de GSK3 $\beta$  facilita la producción de  $\beta$ -amiloide y la formación de las placas seniles (82,83). Su inhibición mejora la fosforilación de tau, así como la patología  $\beta$ -amiloide en modelos animales y pacientes con EA (84).

GSK3 $\beta$  está aumentada en los cerebros de los pacientes con EA (85). La melatonina disminuye la fosforilación de esta molécula, y también, a diversas concentraciones, aumenta de forma dependiente pGSK3 $\beta$  en comparación con el control (figura 6) y también evita que disminuya concentración de la misma debido al  $\beta$ -amiloide (86).



**Figura 6: Efectos de la melatonina dependientes de la concentración en pGSK3 $\beta$ /GSK3 $\beta$  (86).**

La activación excesiva de NF- $\kappa$ B agrava la patogénesis en la EA y su aumento expresión se ha demostrado en los cerebros de pacientes que la padecen (87,88). La inhibición de la señalización de esta vía puede mejorar la neuroinflamación (89), la neurodegeneración y las alteraciones de la memoria (90).

La expresión de peptidyl-prolylcis/transisomerasa (Pin1) está regulada durante la embriogénesis para lograr patrones específicos de distribución de ARNm y proteína (91). Cambios en Pin1 se pueden observar en el envejecimiento, las taupatías y la neurodegeneración (92,93). Su sobreexpresión o la inhibición de la misma podrían ser utilizados para la prevención de la formación de  $\beta$ -amiloide y para evitar que se produzcan las taupatías (94,95). Pin1 es un regulador de NF- $\kappa$ B (96) y de la vía de señalización de GSK3 $\beta$  (97), y su reducción o desregulación podrían constituir un puente de unión entre el procesamiento amiloidogénico de APP (98) y la fisiopatología de tau (99). Ésta molécula suele encontrarse en el núcleo celular, su traslocación al citoplasma es un proceso asociado con un procesamiento aberrante de APP y con la hiperfosforilación de tau. El tratamiento con melatonina previene que el  $\beta$ -amiloide induzca la translocación de Pin1, lo cual evita que haya déficits de Pin1 nuclear,

manteniendo así su integridad funcional y evitando, por tanto que se creen una APP aberrante y la hiperfosforilación de tau (86).

Por otra parte, los niveles disminuidos de polipéptido desintegrina-metaloproteinasa 10 (ADAM10) en pacientes con EA se correlacionan con la gravedad de la enfermedad y su inhibición aumenta el procesamiento amiloidogénico de APP (100). La melatonina interfiere directamente con la vía de señalización de NF- $\kappa$ B/GSK3 $\beta$  en condiciones patológicas y regula la expresión de ADAM10 (86).

## 5. LA MELATONINA Y SUS ACCIONES NEUROPROTECTORAS EN LAS ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

### 5.1 ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

La melatonina actúa tanto a nivel de la formación de las placas seniles como de los ovillos neurofibrilares, pero como hemos visto, el péptido  $\beta$ -amiloide causa daño neuronal, y en este proceso están implicados mecanismos de apoptosis, estrés oxidativo y neuroinflamación. En relación a esto, la melatonina también tiene acciones neuroprotectoras, además de en la propia neuropatología amiloide, en las consecuencias que tiene la misma:

#### 5.1.1 Apoptosis en la enfermedad de Alzheimer

Estudios realizados en ratones transgénicos con EA sugieren que la administración de melatonina inhibe el aumento inducido por el  $\beta$ -amiloide de la expresión de la proteína pro-apoptótica bax en las mitocondrias inhibiendo, por tanto, la apoptosis de las mismas. Además evita que se sobre exprese Par-4 y suprime la actividad de la caspasa 3 inducida por el  $\beta$ -amiloide (101), inhibiendo la activación de la vía NK- $\kappa$ B, y reduciendo la generación de especies reactivas del oxígeno intracelulares inducidas por el  $\beta$ -amiloide (102).

Por otra parte, la melatonina activa las vías de supervivencia celular: estabiliza la función mitocondrial mediante las moléculas anti-apoptóticas de la familia Bcl-2. También se ha visto que inhibe la fosforilación de NADPH oxidasa vía P13K/Akt en la microglía expuesta a  $\beta$ -amiloide (103).

La apoptosis neuronal inducida por el  $\beta$ -amiloide, junto con los déficits de memoria, la degeneración sináptica y la hiperfosforilación de tau, se revirtieron con el tratamiento a largo plazo de melatonina en ratones. Este efecto anti-apoptótico de la melatonina ha demostrado ser mediado por la atenuación de la caspasa-9, caspasa-3 y PARP-1 (104).

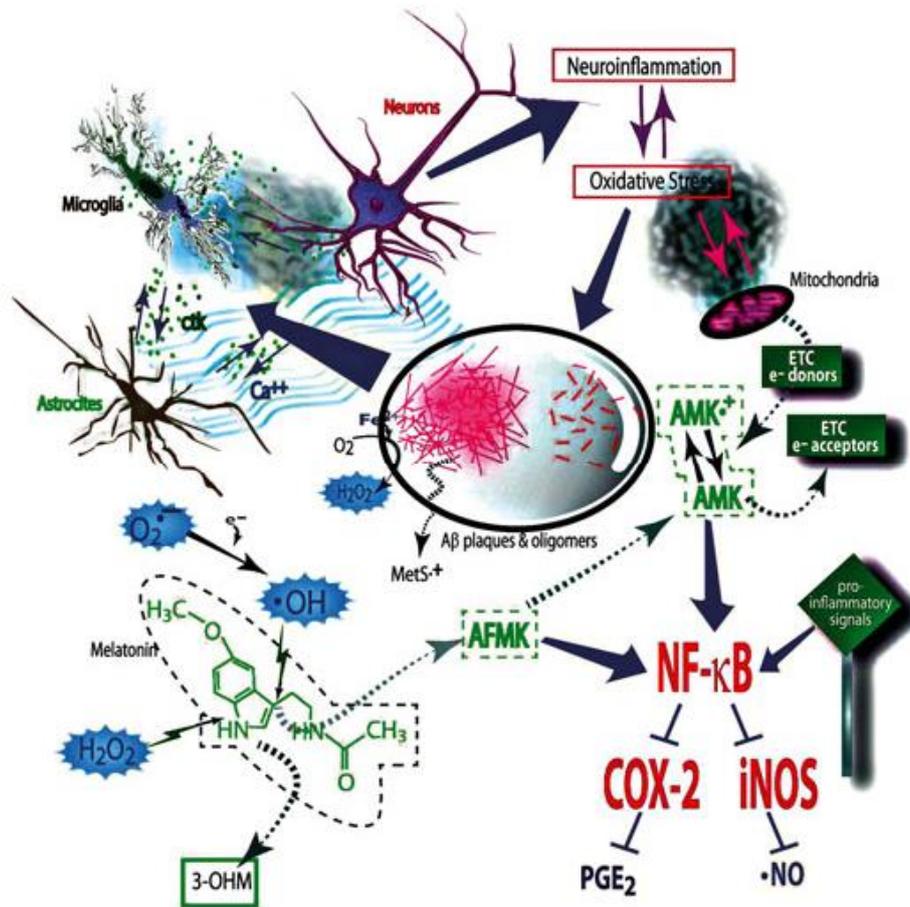
### 5.1.2 Neuroinflamación y estrés oxidativo en la enfermedad de Alzheimer

La acumulación de  $\beta$ -amiloide en placas así como en oligómeros puede producir eventos inflamatorios, oxidativos y excitotoxicidad, causando neurodegeneración y deterioro cognitivo.

Las propiedades neurotóxicas de  $\beta$ -amiloide dependen en gran medida de los radicales libres. La sobreproducción de los mismos en la patogenia de la EA viene del estallido respiratorio microglial en respuesta a eventos neuroinflamatorios inducidos por  $\beta$ -amiloide (105-108). El estallido respiratorio en la EA es el resultado de diversos procesos que conducen a la activación de la nicotinamida adenina dinucleótido fagocítica fosfato (NADPH) -oxidasa (PHOX). La activación de la NADPH oxidasa probablemente tanto en las neuronas como en la glía (109,110) vincula el control redox y las vías de señalización neuroinflamatoria (111).

El péptido  $\beta$ -amiloide causa proliferación microglial mediada por PHOX. Se ha demostrado que hay una marcada translocación de los factores citosólicos p47phox y p67phox en la membrana de la microglía de los cerebros de los pacientes con AD, lo cual está relacionado con eventos pro-inflamatorios como la sobreproducción de TNF- $\alpha$  e IL1- $\beta$  (112,113).

Debido a que el  $\beta$ -amiloide induce estrés oxidativo y, por tanto, está relacionado con el daño mitocondrial, se establece un mecanismo estrechamente relacionado con la apoptosis (114-117). Recíprocamente, el estrés oxidativo puede inducir la acumulación intracelular de  $\beta$ -amiloide, mejorando la vía amiloidogénica (114,119,120) (figura 7).



**Figura 7: Procesos neuropatológicos en la enfermedad de Alzheimer.** Las placas y oligómeros de  $\beta$ -amiloide se encuentran en el medio de un conjunto complejo de interacciones entre astrocitos, microglía y neuronas que originan una respuesta neuroinflamatoria. Esto está relacionado con las especies reactivas del oxígeno (ROS) y la sobreproducción de especies reactivas del nitrógeno (RNS) (nubes grises), que culminan en estrés oxidativo, lo que a su vez retroalimenta los fenómenos neuroinflamatorios. La disfunción de los orgánulos, especialmente las mitocondrias, agrega más radicales libres y agrava la situación. Además, el estrés oxidativo y  $\beta$ -amiloide son fenómenos interdependientes; por lo tanto, cuanto más oxidación se produzca, más acumulación de amiloide habrá. El  $\beta$ -amiloide recién formado contribuye a más neuroinflamación y estrés oxidativo, cerrando el círculo vicioso. Por otra parte, el  $\beta$ -amiloide puede ser un oxidante por sí mismo, como se muestra en la figura. La melatonina (verde) y sus principales metabolitos (AFMK y AMK) desempeñan un papel clave al atrapar radicales libres directamente, y también mejoran los sistemas antioxidantes endógenos. Y desempeñan un papel importante en la neuroinflamación al regular tanto las señales proinflamatorias, como los mediadores del estrés oxidativo (COX2 e iNOS) al evitar la integración completa de  $NF-\kappa B$  (8). Ctk, citoquinas; Ab, beta amiloide; AFMK, N1-acetil-N2-formil-5-metoxiquinuramina; AMK, N1-acetil-5-metoxiquinuramina; 3-OHM, 3-hidroximetilatonina cíclica; ETC, cadena de transporte de electrones;  $NF-\kappa B$ , factor nuclear kappa SEGUNDO; COX-2, ciclooxigenasa 2; iNOS, óxido nítrico sintasa inducible;  $PGE_2$ , prostaglandina E2.

La melatonina tiene un papel clave en el ensamblaje de PHOX inducido por el  $\beta$ -amiloide y la posterior producción de ROS. Altera este ensamblaje al inhibir la translocación de las subunidades p47phox y p67phox del citosol a la membrana plasmática (8).

Existe una fluida comunicación entre la microglía y los astrocitos. Así, varios factores de los astrocitos que se liberan (incluidos el TGF- $\beta$ , el factor estimulador de colonias de macrófagos, el factor estimulante de colonias de granulocitos/macrófagos, IL-10, IL- $\beta$  y ApoE) modulan la actividad de microglía (121-123). Las ondas gliales de  $Ca^{2+}$  pueden desencadenar respuestas en células microgliales, y estas ondas de calcio, *in vitro*, surgen en respuesta a la administración de  $\beta$ -amiloide (124). El ATP extracelular también puede provocar ondas de  $Ca^{2+}$  y activar una respuesta inflamatoria microglial.

La melatonina parece tener efectos moduladores en la gliotransmisión dependiente de ATP, y con ello, en las ondas gliales de calcio derivadas de diferentes regiones cerebrales, regulando la función astrogliar (125). Esta indolamina modula el  $Ca^{2+}$  intracelular y, de esta manera, puede proteger a las células de las vías de muerte celular dependientes del calcio en células sometidas a excitotoxicidad y estrés oxidativo (126). Al controlar el flujo de  $Ca^{2+}$ , atenúa la excitotoxicidad mediada por glutamato, que es responsable del daño de las neuronas mediado por NMDAR. Y, como se mencionó anteriormente, el estrés oxidativo es uno de los mecanismos de daño mitocondrial inducido por el  $\beta$ -amiloide (110).

### 5.1.3 El tratamiento con melatonina en la enfermedad de Alzheimer

Además de las placas seniles y los ovillos neurofibrilares, en la patología de la EA los niveles circulantes de melatonina son menores en los pacientes con esta enfermedad que en los del grupo control para la misma edad. La disminución en el líquido cefalorraquídeo de los niveles de la misma han sido vinculados a una reducción de la producción por parte de la glándula pineal, y no sólo eso, sino que se ha visto que los niveles de melatonina en el líquido cefalorraquídeo están disminuidos incluso en los estadios preclínicos de la enfermedad, cuando aún no se observan daños cognitivos (esto corresponde a los estadios I y II de Braak) (127,128). Esto nos podría indicar que la reducción de los niveles de melatonina podría ser un marcador temprano para las primeras etapas de la enfermedad.

Hay dos razones principales por las cuales es bastante conveniente el uso de melatonina, o de sus análogos (2):

- Los pacientes con EA muestran un mayor desajuste del ciclo circadiano del sueño/vigilia en comparación con los controles del mismo grupo de edad y sin demencia.
- Los pacientes con demencia pasan la noche en un estado de inquietud constante, en cambio, durante el día se encuentran somnolientos.

Estas alteraciones del sueño/vigilia se vuelven más marcadas con la progresión de la enfermedad (129), por lo tanto, la recuperación de los niveles normales de melatonina

en el cerebro de estos pacientes es altamente conveniente, siendo el objetivo del tratamiento detener o, al menos, frenar la progresión de la enfermedad, así como mejorar el sueño y la actividad diurna y, en consecuencia, la calidad de vida de estos pacientes (2).

Otra forma de abordaje terapéutico utilizando la melatonina para evitar o disminuir el daño cognitivo que acontece en la EA consiste en evitar el MCI (Mild cognitive impairment), que consiste en un síndrome heterogéneo caracterizado por tener daño cognitivo en pacientes con demencia avanzada. La administración diaria de melatonina por las noches mejora la calidad del sueño y los síntomas cognitivos en pacientes con MCI (130).

Pese a todos estos estudios, los mecanismos que explican el efecto terapéutico de la melatonina en pacientes con EA siguen siendo desconocidos. El tratamiento con melatonina principalmente promueve el sueño de onda lenta en ancianos y puede ser beneficioso en EA al aumentar las fases restauradoras del sueño (131).

## 5.2 ENFERMEDAD DE PARKINSON

La enfermedad de Parkinson es la segunda enfermedad neurodegenerativa más común. Está caracterizada por una pérdida progresiva de neuronas dopaminérgicas y de dopamina en la sustancia negra y en el núcleo estriado. El estrés oxidativo y los radicales libres formados por la disfunción mitocondrial y el metabolismo dopaminérgico son claves en la etiología de esta enfermedad. En concreto la exposición a altas concentraciones de  $H_2O_2$  formadas durante la oxidación de la dopamina por la monoamino oxidasa (MAO) es una de las causas mayores de destrucción de las neuronas dopaminérgicas en estos pacientes. Además, la neurodegeneración que ocurre en el Parkinson, al menos en parte, también es debida a la activación de la vía de apoptosis mitocondrial.

La melatonina reduce la pérdida de neuronas piramidales en el hipocampo en pacientes con enfermedad de Parkinson (8). Así mismo, la melatonina potencia la limpieza de radicales libres por parte del hidroxilo en el cuerpo estriado y en mitocondrias aisladas en modelos murinos de Parkinson (132).

Para estudiar la acción de la melatonina en el estrés oxidativo y la disfunción mitocondrial que acontecen en esta enfermedad, se han realizado diversos estudios utilizando numerosas toxinas como 6-hidroxdopamina (6-OHDA), d1-methyl-4-phenil-1,2,3,6-tetrahidropiridia (MPTP) y rotenona (figura 8) en modelos de ratón (14).

6-OHDA, un metabolito activo de la dopamina, induce la muerte celular en las neuronas dopaminérgicas de modelos experimentales con ratones. La melatonina puede evitar la muerte celular causada por la misma *in vivo* e *in vitro* (133,134). Estos efectos

neuroprotectores implican el mantenimiento de la actividad del complejo mitocondrial I y la promoción de enzimas antioxidantes (135).

La rotenona incrementa el estrés oxidativo en las neuronas nigroestriatales porque inhibe la actividad del complejo I mitocondrial en un modelo experimental con ratones, el tratamiento con melatonina evita el déficit de dopamina causado por este tóxico, restaurando las funciones motoras (136-138).

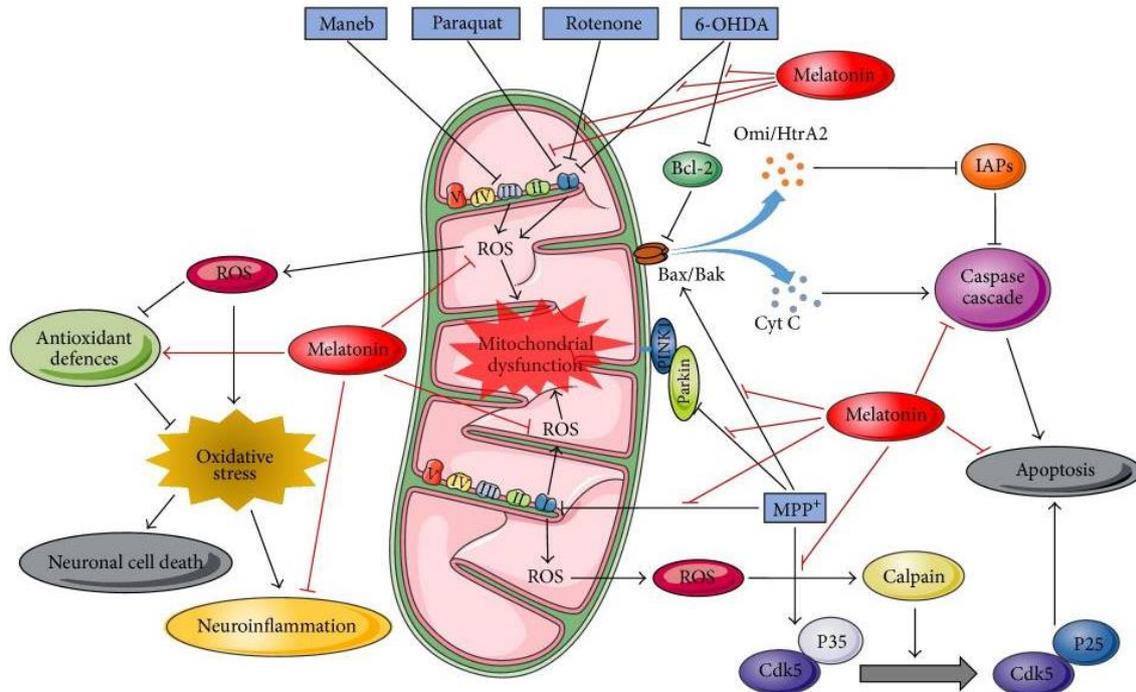
En un modelo experimental con ratones tratados con MPTP, la melatonina fue efectiva en prevenir la muerte neuronal en la vía nigroestriatal. Estos descubrimientos demuestran que la melatonina previene la muerte de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra inducida por MPTP (2). Lo que ocurre es que MPTP inhibe el complejo I mitocondrial de la cadena de transporte de electrones, esta inhibición se ha visto en la sustancia negra de los pacientes con enfermedad de Alzheimer. Mediante el aumento de la actividad de los complejos mitocondriales I y IV de la cadena de transporte de electrones, la melatonina tiene efectos beneficiosos en las lesiones producidas por toxicidad debida a MPTP (10).

Esta indolamina a su vez previene la sobrecarga de  $Ca^{2+}$  mitocondrial inducida por el peróxido de hidrógeno y la despolarización de la membrana mitocondrial, también evita la formación de radicales libres de oxígeno y bloquea la liberación del citocromo c MPT-dependiente y la fragmentación del ADN nuclear en los astrocitos de las ratas con Parkinson que se utilizaron para el estudio (145).

La melatonina también estimula la expresión de los enzimas antioxidantes Cu/Zn-SOD, Mn-SOD, y GPx en neuronas dopaminérgicas en cultivo (135).

Por otra parte, la metanfetamina (METH), una droga psicoestimulante, se ha usado para describir las acciones anti-apoptóticas de la melatonina y su relación con la enfermedad de Parkinson. Ésta causa efectos neurotóxicos en el sistema dopaminérgico (139,140), imitando muchas de las características neurodegenerativas que ocurren en la enfermedad, como el déficit de dopamina en el núcleo estriado y la acumulación de cuerpos de Lewy (141). La melatonina protege a las neuronas y a las células gliales de la muerte inducida por METH, a través de la inhibición de la vía apoptótica dependiente de las mitocondrias. METH aumenta los mediadores de muerte celular (el citocromo c, la caspasa-9) y disminuye la caspasa-3, esto es inhibido por la melatonina *in vitro*. Y también METH aumenta los niveles de dynamin-related protein (Drp1), la cual conduce a la fragmentación de las mitocondrias y la muerte celular mediante la oligomerización de Bax/Bak, esta vía promueve la asociación de Drp1 a la membrana mitocondrial. La melatonina, debido a su efecto inhibitorio de la activación de Bax, inhibe la translocación de Drp1 desde el citosol al interior de la mitocondria, y en consecuencia la fisión mitocondrial (142).

La vía JNK también está implicada en la patogénesis de esta enfermedad mediante la activación de la apoptosis, la melatonina, como se ha comentado anteriormente, inhibe su cascada de señalización (143,144).



**Figura 8: Resumen de los mecanismos moleculares asociados a los efectos neuroprotectores de la melatonina en modelos in vivo e in vitro de la enfermedad de Parkinson.** El principal mecanismo molecular de las neurotoxinas está relacionado con su capacidad de inhibir los complejos de la cadena de transporte de electrones mitocondrial. La inhibición de estos complejos conduce a un aumento de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y, en consecuencia, a la disfunción mitocondrial, el estrés oxidativo, la activación de las vías apoptóticas y la neuroinflamación, que culmina con la muerte de las células neuronales. La melatonina ejerce efectos neuroprotectores a través de diferentes mecanismos: protección de la actividad del complejo I, neutralización de ROS, aumento de las defensas antioxidantes celulares, reducción de la neuroinflamación, inhibición de la cascada de caspasas y apoptosis celular. La melatonina también puede proteger contra la inducción de la expresión de Bax y Cdk5 / p35 y la inhibición de la expresión de Parkin / PINK1 y Bcl-2 inducida por toxinas en modelos de PD. 6-OHDA: 6-hidroxidopamina; Bak: antagonista / asesino Bcl2; Bax: X asociado a Bcl2; Bcl2: leucemia / linfoma de células B 2; Cdk5: quinasa 5 dependiente de ciclina; Cyt C: Cytochrome C; IAP: inhibidores de proteínas de la apoptosis; MPP<sup>+</sup>: 1-metil-4-fenilpiridinio; Omi / HtrA2: serinapeptidasaHtrA 2; ROS: especies de oxígeno reactivo (1).

A día de hoy, no hay ningún tratamiento que retrase o evite la progresión de la enfermedad, sólo son sintomáticos. Entonces en referencia a lo dicho anteriormente,

¿Cuál es el papel de la melatonina en la prevención y tratamiento de los pacientes con enfermedad de Parkinson? Los estudios realizados para contestar esta pregunta muestran una controversia de resultados. Algunos indican que la melatonina podría tener efectos beneficiosos en frenar la progresión de los cambios neurodegenerativos, en cambio otros han publicado una exacerbación de los síntomas motores con el tratamiento de melatonina.

Por tanto, no todos los estudios acerca del papel de la melatonina en la enfermedad de Parkinson son a favor del uso de la misma. Por ejemplo, se ha visto que una reducción de la neurohormona mediante una pinealectomía o a través de la exposición a luz intensa en ratones experimentales con la enfermedad, mejoran su parkinsonismo (146). La administración de melatonina conlleva a una depleción de catecolaminas en el núcleo estriado, así como pérdida de células secretoras de dopamina en la sustancia negra, procesos que agravan la enfermedad (147).

Basándose en todo esto, se ha sugerido un posible tratamiento para los pacientes con enfermedad de Parkinson que podría incluir la reducción de la producción de melatonina, o un bloqueo farmacológico de los receptores de la misma, y en consecuencia, de sus acciones. Además, a través de una inhibición de la síntesis de melatonina se ha visto una reducción de la rigidez y la bradicinesia (146).

Por tanto, estos estudios contradicen las publicaciones de los efectos beneficiosos de la melatonina en los síntomas parkinsonianos, y el uso de la misma como una terapia que podría evitar la degeneración progresiva que acontece en esta enfermedad así como la mejoría de los síntomas ha sido cuestionado (148).

### 5.3 ENFERMEDAD DE HUNTINGTON

La enfermedad de Huntington es una enfermedad hereditaria autosómica dominante. No tiene tratamiento efectivo y es fatal. Se caracteriza por trastornos del movimiento, deterioro cognitivo y demencia. Esta causada por la expansión del triplete CAG en el exón 1 del gen de la huntingtina (149).

El estrés oxidativo juega un papel muy importante en la etiología del daño neuronal y en la neurodegeneración que acontece en esta enfermedad (150). Es por esto que las estrategias terapéuticas contra esta enfermedad se centran sobre todo en conseguir una defensa antioxidante.

En esta enfermedad hay disfunción mitocondrial, aunque no está clara la relación entre ésta y la mutación del gen de la huntingtina (mHtt), y más bien el daño a la cadena de transporte de electrones parece ser un evento secundario en la evolución de la enfermedad (151).

Varios estudios demuestran que la melatonina tiene efectos neuroprotectores en esta enfermedad, principalmente a través de sus propiedades antioxidantes. El ácido kaínico es una neurotoxina que cuya excitotoxicidad es similar a los eventos patológicos que ocurren en la enfermedad de Huntington. La melatonina previene la peroxidación lipídica en el daño debido a radicales libres producido por el ácido kaínico (152,153). Diversos estudios *in vivo* e *in vitro*, se ha visto que la melatonina disminuye la muerte neuronal inducida por el tratamiento con esta neurotoxina (152-158).

Por otra parte, el ácido 3-Nitropropiónico (3-NP) es otra neurotoxina que inhibe el complejo mitocondrial II y exhibe unas características neuropatológicas similares a las que acontecen en la enfermedad de Huntington. Su administración causa un incremento del estrés oxidativo y muerte celular, siendo estos procesos atenuados por la melatonina y su capacidad para restaurar la actividad enzimática mitocondrial (159-162).

También se ha visto que los niveles del receptor MT<sub>1</sub> disminuyen tanto en cultivos de células del núcleo estriado en un modelo de ratones con enfermedad de Huntington, como en el núcleo estriado humano asociado a toxicidad mediada por mHtt. A medida que progresa la enfermedad los niveles de receptores van disminuyendo. Además, la disminución del número de receptores MT<sub>1</sub> hizo que las células fueran más vulnerables a la muerte celular, mientras que la sobreexpresión del receptor MT<sub>1</sub> aumenta la resistencia a la muerte celular. La administración de melatonina contrarrestó la depleción del receptor MT<sub>1</sub> atribuible a mHtt *in vitro* e *in vivo* (163).

La melatonina previene la muerte de las neuronas corticales primarias que habrían sido inducidas a entrar en apoptosis por moléculas pro-apoptóticas. Además se está investigando sobre si la melatonina inhibe la sobreexpresión de Rip2 (molécula que, como se ha comentado anteriormente, está presente tanto en la enfermedad de Alzheimer como en la de Huntington y que está implicada en los mecanismos de apoptosis) (12).

Por otra parte, aún no se han publicado artículos que confirmen que la melatonina active vías de supervivencia en los pacientes con enfermedad de Huntington.

## 5.4 ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA

La esclerosis lateral amiotrófica es una enfermedad fatal caracterizada por una progresiva degeneración de las neuronas motoras. Los mecanismos patológicos que contribuyen a la muerte neuronal incluyen daño en el transporte axonal, disfunción mitocondrial, desorganización de neurofilamentos, agregación de proteínas, y daño en

la función de los proteasomas (2). Y también contribuyen a la enfermedad mecanismos excitotóxicos, siendo el único tratamiento existente el Riluzol, fármaco antiexcitotóxico (164). Aun así no es curativo, prolonga la vida de los pacientes unos meses. De nuevo aquí las estrategias terapéuticas contra esta enfermedad se centran sobre todo en moléculas antioxidantes, desde que se ha descubierto que las principales alteraciones en esta enfermedad tienen relación con el estrés oxidativo (2).

Se ha publicado una reducción del daño producido por el estrés oxidativo en un ensayo de ratones con ELA usando altas dosis de melatonina (165). Además, altas dosis de melatonina vía oral retrasan la progresión de la enfermedad y aumentan la supervivencia en un modelo de ratones *in vivo* (165). Aun así, en este modelo de ratones experimentales, no hay diferencias significativas en la cantidad total de AKT o ERK en la médula espinal comparándolos con el grupo control (sin melatonina) (165). Otro estudio demuestra que la melatonina atenúa la muerte celular inducida por la superóxido dismutasa y modula la toxicidad glutamatérgica en neuronas cultivadas *in vitro* (166).

La neuroprotección proporcionada por la melatonina a través de la inhibición de las vías de apoptosis o la activación de vías de supervivencia sigue siendo un terreno desconocido que debe ser más investigado, puesto que parece ser que la melatonina es neuroprotectora en modelos animales con ELA y en humanos, y además no es tóxica, se debería considerar como un futuro agente para tratar esta enfermedad (12).

## 6. CONCLUSIONES

La melatonina es una neurohormona que ha demostrado tener múltiples propiedades neuroprotectoras. Entre ellas destacan sus acciones antioxidantes bien eliminando especies reactivas de oxígeno y nitrógeno o regulando diversas enzimas del metabolismo oxidativo; antiapoptóticas, sobre todo actuando a nivel de la vía intrínseca de la apoptosis; antiinflamatorias, disminuyendo la activación de la microglía y regulando la producción de citoquinas pro y anti-inflamatorias. Además, también ha demostrado tener un papel promotor de la neurogénesis, ya que promueve la proliferación, diferenciación y supervivencia neuronal. Por último, la melatonina parece disminuir la neurodegeneración y la neuropatología amiloide, actuando sobre las placas seniles y los ovillos neurofibrilares. Todas estas acciones neuroprotectoras han sido estudiadas y demostrados en numerosos estudios usando modelos experimentales *in vitro* e *in vivo* de diversas neuropatologías como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica y la enfermedad de Huntington.

Los resultados obtenidos con todos estos modelos experimentales de diferentes neuropatologías indican que el tratamiento con melatonina podría ser efectivo para

reducir o aliviar la neurodegeneración y los problemas cognitivos y del comportamiento asociados en pacientes con enfermedades neurodegenerativas en las que el aumento del estrés oxidativo, la neuroinflamación, la apoptosis o el acúmulo de proteínas tóxicas juegan un papel importante en la pérdida de neuronas en distintas áreas cerebrales de estas enfermedades.

Así, se han realizado varios estudios clínicos para estudiar la efectividad de esta molécula en el tratamiento de las principales enfermedades neurodegenerativas. Sin embargo, al contrario que lo encontrado en modelos experimentales, la melatonina no parece ser muy eficaz en el tratamiento sintomático de los pacientes con estas enfermedades ya que no es capaz de detener la neurodegeneración. Sus principales beneficios parecen estar relacionados con la mejora de los trastornos asociados al sueño que presentan todos estos pacientes.

Por tanto, a la vista de los resultados de los ensayos clínicos, el valor de la melatonina para prevenir o curar la progresión de las enfermedades neurodegenerativas en humanos sigue siendo incierto.

Desde mi punto de vista, se deberían de hacer nuevos ensayos clínicos probando nuevas dosis y nuevas metodologías para ver si esta molécula tiene realmente las propiedades neuroprotectoras que se le han atribuido en tanto estudios con modelos experimentales. Además, este contraste entre los resultados encontrados en modelos experimentales de diversas enfermedades neurodegenerativas y los estudios realizados en humanos, también deberían de hacer que nos preguntásemos si los modelos experimentales que se utilizan son buenos para estudiar una neuropatología concreta.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

1. Mack JM, Schamne MG, Sampaio TB, Pértile RAN, Fernandes PACM, Markus RP, et al. Melatonergic System in Parkinson's Disease: From Neuroprotection to the Management of Motor and Nonmotor Symptoms. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016.
2. Pandi-Perumal SR, Bahammam AS, Brown GM, Spence DW, Bharti VK, Kaur C, et al. Melatonin antioxidative defense: Therapeutical implications for aging and neurodegenerative processes. *Neurotox Res*. 2013;23(3):267–300.
3. Liu T, Borjigin J. N-acetyltransferase is not the rate-limiting enzyme of melatonin synthesis at night. *J Pineal Res*. 2005;39:91–96.
4. Ribelayga C, Pévet P, Simonneaux V. HIOMT drives the photoperiodic changes in the amplitude of the melatonin peak of the Siberian hamster. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2000;278:R1339–R1345.
5. Klein DC. Arylalkylamine N-acetyltransferase: "the Time- zyme". *J Biol Chem*. 2007; 282:4233–4237.
6. Hardeland R, Cardinali DP, Brown GM, Pandi-Perumal SR. Melatonin and brain inflammaging. *Prog Neurobiol*. 2015;127–128:46–63.
7. Sainz RM, Mayo JC, Rodríguez C, Tan DX, Lopez-Burillo S, Reiter RJ. Melatonin and cell death: differential actions on apoptosis in normal and cancer cells. *Cell Mol Life Sci*. 2003;60:1407–1426.
8. Rosales-Corral SA, Acuña-Castroviejo D, Coto-Montes A, Boga JA, Manchester LC, Fuentes-Broto L, et al. Alzheimer's disease: Pathological mechanisms and the beneficial role of melatonin. *J Pineal Res*. 2012;52(2):167–202.
9. Zhang Q, Ding H, Li W, Fan Z, Sun A, Luo J, Ke ZJ. Senescence accelerated mouse strain is sensitive to neurodegeneration induced by mild impairment of oxidative metabolism. *Brain Res*. 2009;1264:111–118.
10. Acuña-Castroviejo CD, Lopez LC, Escames G, Lopez A, García JA, Reiter RJ. Melatonin-mitochondria interplay in health and disease. *Curr Top Med Chem*. 2011;11:221–240.
11. Martin M, Macias M, León J, Escames G, Khaldy H, Acuña-Castroviejo D. Melatonin increases the activity of the oxidative phosphorylation enzymes and the production of ATP in rat brain and liver mitochondria. *Int J Biochem Cell Biol*. 2002;34:348–357.
12. Wang X. Diseases. *Stroke*. 2010;15(4):345–57.
13. Tornero D, Ceña V, González-García C, Jordán J. Papel del poro de permeabilidad transitoria mitocondrial en los procesos neurodegenerativos. *Rev Neurol*.

- 2002;35(4):354–61.
14. Wongprayoon P, Govitrapong P. Melatonin as a mitochondrial protector in neurodegenerative diseases. *Cell Mol Life Sci.* 2017;74(21):3999–4014.
  15. Li M, Ona VO, Guegan C, Chen M, Jackson-Lewis V, Andrews LJ, Olszewski AJ, Stieg PE, Lee JP, Przedborski S, et al. Functional role of caspase-1 and caspase-3 in an ALS transgenic mouse model. *Science* 2000;288:335–339.
  16. Chen M, Ona VO, Li M, Ferrante RJ, Fink KB, Zhu S, Bian J, Guo L, Farrell LA, Hersch SM, et al. Minocycline inhibits caspase-1 and caspase-3 expression and delays mortality in a transgenic mouse model of Huntington disease. *Nat Med* 2000;6:797–801.
  17. Mattson MP. Excitotoxic and excitoprotective mechanisms: abundant targets for the prevention and treatment of neurodegenerative disorders. *Neuromolecular Med* 2003;3:65–94.
  18. Xie J, Guo Q. PAR-4 is involved in regulation of beta-secretase cleavage of the Alzheimer amyloid precursor protein. *J Biol Chem* 2005;280:13824–13832.
  19. Culmsee C, Zhu Y, Krieglstein J, Mattson MP. Evidence for the involvement of Par-4 in ischemic neuron cell death. *J Cereb Blood Flow Metab* 2001;21:334–343.
  20. Green DR, Galluzzi L, Kroemer G. Mitochondria and the autophagy-inflammation-cell death axis in organismal aging. *Science.* 2011.
  21. Chetsawang J, Govitrapong P, Chetsawang B. Melatonin inhibits MPP+induced caspase-mediated death pathway and DNA fragmentation factor-45 cleavage in SK-N-SH cultured cells. *J Pineal Res* 2007;43:115–120.
  22. Chetsawang B, Govitrapong P, Ebadi M. The neuroprotective effect of melatonin against the induction of c-Jun phosphorylation by 6-hydroxydopamine on SK-N-SH cells. *Neurosci Lett* 2004;371:205– 208.
  23. Tournier C, Hess P, Yang DD, Xu J, Turner TK, Nimmual A, Bar-Sagi D, Jones SN, Flavell RA, Davis RJ. Requirement of JNK for stress-induced activation of the cytochrome c-mediated death pathway. *Science* 2000;288:870–874.
  24. Lukiw WJ, Bazan NG. Survival signalling in Alzheimer's disease. *Biochem Soc Trans* 2006;34:1277– 1282.
  25. Radogna F, Cristofanon S, Paternoster L, D'Alessio M, De Nicola M, Cerella C, Dicato M, Diederich M, Ghibelli L. Melatonin antagonizes the intrinsic pathway of apoptosis via mitochondrial targeting of Bcl-2. *J Pineal Res* 2008;44(3):316–325.
  26. Radogna F, Albertini MC, De Nicola M, Diederich M, Bejarano I, Ghibelli L. Melatonin promotes Bax sequestration to mitochondria reducing cell susceptibility to apoptosis via the lipoxygenase metabolite 5-hydroxyeicosatetraenoic acid. *Mito- chondrion* 2015;21:113–121.

27. Koh PO. Melatonin attenuates the focal cerebral ischemic injury by inhibiting the dissociation of pBad from 14-3-3. *J Pineal Res* 2008;44:101–106.
28. Franceschi, C., Bonafé, M., Valensin, S., Olivieri, F., De Luca, M., Ottaviani, E., De Benedictis, G. Inflamm-aging. An evolutionary perspective in immunosenescence. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2000;908, 244–254.
29. Boren, E., Gershwin, M.E. Inflamm-aging: autoimmunity, and the immune- risk phenotype. *Autoimmun. Rev.* 2004;3, 401–406.
30. Capri, M., Monti, D., Salvioli, S., Lescai, F., Altilia, S., Sevini, F., Valensin, S., Ostan, R., Bucci, L., Franceschi, C. Complexity of anti-immunosenescence strategies in humans. *Artif. Organs* 2006;30, 730–742.
31. Salvioli, S., Capri, M., Valensin, S., Tieri, P., Monti, D., Ottaviani, E., Franceschi, C. Inflamm-aging, cytokines and aging: state of the art, new hypotheses on the role of mitochondria and new perspectives from systems biology. *Curr. Pharm. Des.* 2006;12, 3161–3171.
32. Cevenini, E., Monti, D., Franceschi, C. Inflamm-aging. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 2013;16, 14–20.
33. Chandra, A., Johri, A., Beal, M.F. Prospects for neuroprotective therapies in prodromal Huntington’s disease. *Mov. Disord.* 2014;29, 285–293.
34. Crotti, A., Benner, C., Kerman, B.E., Gosselin, D., Lagier-Tourenne, C., Zuccato, C., Cattaneo, E., Gage, F.H., Cleveland, D.W., Glass, C.K. Mutant Huntingtin promotes autonomous microglia activation via myeloid lineage-determining factors. *Nat. Neurosci.* 2014;17, 513–521.
35. Bowerman, M., Vincent, T., Scamps, F., Perrin, F.E., Camu, W., Raoul, C. Neuroimmunity dynamics and the development of therapeutic strategies for amyotrophic lateral sclerosis. *Front. Cell. Neurosci.* 2013;7, 214.
36. Zhao, W., Beers, D.R., Appel, S.H. Immune-mediated mechanisms in the pathoprogession of amyotrophic lateral sclerosis. *J. Neuroimmune Pharmacol.* 2013;8, 888–899.
37. Rizzo, F., Riboldi, G., Salani, S., Nizzardo, M., Simone, C., Corti, S., Hedlund, E. Cellular therapy to target neuroinflammation in amyotrophic lateral sclerosis. *Cell. Mol. Life Sci.* 2014;71, 999–1015.
38. Lu, C., Schoenfeld, R., Shan, Y., Tsai, H.J., Hammock, B., Cortopassi, G. Frataxin deficiency induces Schwann cell inflammation and death. *Biochim. Biophys. Acta* 2009;1792, 1052–1061.
39. More, S.V., Kumar, H., Kim, I.S., Song, S.Y., Choi, D.K. Cellular and molecular mediators of neuroinflammation in the pathogenesis of Parkinson’s disease. *Mediators Inflamm.* 2013, 952375.
40. Nolan, Y.M., Sullivan, A.M., Toulouse, A. Parkinson’s disease in the nuclear age of

- neuroinflammation. *Trends Mol. Med.* 2013;19, 187–196.
41. Taylor, J.M., Main, B.S., Crack, P.J. Neuroinflammation and oxidative stress: co-conspirators in the pathology of Parkinson's disease. *Neurochem. Int.* 2013;62, 803–819.
  42. Miller, Z.A., Rankin, K.P., Graff-Redford, N.R., Takada, L.T., Sturm, V.E., Cleveland, C.M., Criswell, L.A., Jaeger, P.A., Stan, T., Heggeli, K.A., Hsu, S.C., Karydas, A., Khan, B.K., Grinberg, L.T., Gomo-Tempini, M.L., Boxer, A.L., Rosen, H.J., Kramer, J.H., Coppola, G., Geschwind, D.H., Rademakers, R., Seeley, W.W., Wyss-Coray, T., Miller, B.L., 2013. TDP-43 frontotemporal lobar degeneration and autoimmune disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 2013; 84, 956–962.
  43. Ridolfi, E., Barone, C., Scarpini, E., Galimberti, D. The role of the innate immune system in Alzheimer's disease and frontotemporal lobar degeneration: an eye on microglia. *Clin. Dev. Immunol.* 2013, 939786.
  44. Fuster-Matanzo, A., Llorens-Martín, M., Hernández, F., Avila, J. Role of neuroinflammation in adult neurogenesis and Alzheimer disease: therapeutic approaches. *Mediators Inflamm.* 2013, 260925.
  45. Liu, L., Chan, C. The role of the inflammasome in Alzheimer's disease. *Ageing Res. Rev.* 2014;15C, 6–15.
  46. Lopategui Cabezas, I., Herrera Batista, A., Pento'n Rol, G. The role of glial cells in Alzheimer disease: potential therapeutic implications. *Neurologia.* 2014; 29, 305–309.
  47. Guerrero, J.M., Reiter, R.J. Melatonin-immune system relationships. *Curr. Top. Med. Chem.* 2002;2, 167–179.
  48. Carrillo-Vico, A., Lardone, P.J., Álvarez-Sánchez, N., Rodríguez-Rodríguez, A., Guerrero, J.M. Melatonin: buffering the immune system. *Int. J. Mol. Sci.* 2013;14, 8638–8683.
  49. Hardeland, R. Melatonin and the theories of aging: a critical appraisal of melatonin's role in antiaging mechanisms. *J. Pineal Res.* 2013;55, 325–356.
  50. Radogna, F., Diederich, M., Ghibelli, L. Melatonin: a pleiotropic molecule regulating inflammation. *Biochem. Pharmacol.* 2010;80, 1844–1852.
  51. Sanchez-Barcelo EJ, Rueda N, Mediavilla MD, Martinez-Cue C, Reiter RJ. Clinical Uses of Melatonin in Neurological Diseases and Mental and Behavioural Disorders. *Curr Med Chem.* 2017, 24:3851-3878.
  52. Deng, W.G., Tang, S.T., Tseng, H.P., Wu, K.K. Melatonin suppresses macrophage cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase expression by inhibiting p52 acetylation and binding. *Blood* 2006;108, 518–524.
  53. Korkmaz, A., Rosales-Corral, S., Reiter, R.J. Gene regulation by melatonin linked

- to epigenetic phenomena. *Gene* 2012;503, 1–11.
54. Floden AM, Li S, Combs CK. Beta-amyloid-stimulated microglia induce neuron death via synergistic stimulation of tumor necrosis factor alpha and NMDA receptors. *J Neurosci* 2005;25:2566–2575.
  55. Rosales-Corral S, Tan DX, Reiter RJ, Valdivia-Velazquez M, Martinez-Barboza G, Acosta-Martinez JP, Ortiz GG. Orally administered melatonin reduces oxidative stress and proinflammatory cytokines induced by amyloid-beta peptide in rat brain: a comparative, in vivo study versus vitamin C and E. *J Pineal Res* 2003;35:80–84.
  56. Mayo, J.C., Sainz, R.M., Tan, D.-X., Hardeland, R., León, J., Rodríguez, C., Reiter, R.J. Anti-inflammatory actions of melatonin and its metabolites, N1-acetyl- N2-formyl-5-methoxykynuramine (AFMK) and N1-acetyl-5-methoxykynuramine (AMK), in macrophages. *J. Neuroimmunol.* 2005;165, 139–149.
  57. Deng, W.G., Tang, S.T., Tseng, H.P., Wu, K.K. Melatonin suppresses macrophage cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase expression by inhibiting p52 acetylation and binding. *Blood* 2006;108, 518–524.
  58. Korkmaz, A., Rosales-Corral, S., Reiter, R.J. Gene regulation by melatonin linked to epigenetic phenomena. *Gene* 2012;503, 1–11.
  59. López, L.C., Escames, G., Tapias, V., Utrilla, P., León, J., Acuña-Castroviejo, D. Identification of an inducible nitric oxide synthase in diaphragm mitochondria from septic mice: its relation with mitochondrial dysfunction and prevention by melatonin. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2006;38, 267–278.
  60. Escames, G., López, L.C., Ortíz, F., Ros, E., Acuña-Castroviejo, D. Age-dependent lipopolysaccharide-induced iNOS expression and multiorgan failure in rats: effects of melatonin treatment. *Exp. Gerontol.* 2006;41, 1165–1173.
  61. Escames, G., López, L.C., Tapias, V., Utrilla, P., Reiter, R.J., Hitos, A.B., León, J., Rodríguez, M.I., Acuña-Castroviejo, D. Melatonin counteracts inducible mitochondrial nitric oxide synthase-dependent mitochondrial dysfunction in skeletal muscle of septic mice. *J. Pineal Res.* 2006;40, 71–78.
  62. Jiménez-Ortega, V., Cano, P., Cardinali, D.P., Esquifino, A.I. 24-Hour variation in gene expression of redox pathway enzymes in rat hypothalamus: effect of melatonin treatment. *Redox Rep.* 2009;14, 132–138.
  63. Tapias, V., Escames, G., López, L.C., López, A., Camacho, E., Carrión, M.D., Entrena, A., Gallo, M.A., Espinosa, A., Acuña-Castroviejo, D. Melatonin and its brain metabolite N1-acetyl-5-methoxykynuramine prevent mitochondrial nitric oxide synthase induction in Parkinsonian mice. *J. Neurosci. Res.* 2009;87, 3002–3010.
  64. Benítez-King G, Valdés-Tovar M, Maya-Ampudia V, Jiménez-Rubio G, Domínguez-Alonso A, Riquelme A, et al. La melatonina como un factor promotor de la diferenciación neuronal: implicaciones en el tratamiento de las demencias TT -

- Melatonin as a neuronal differentiation factor: therapeutic implications for dementia. *Salud Ment (Mexico City)* [Internet]. 2013;36(3):193–9. Available from: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-33252013000300004](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33252013000300004).
65. Tahirovic S, Bradke F. Neuronal polarity. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2009;1(3):a001644.
  66. Benítez-King G. PKC activation by melatonin modulates vimentin intermediate filament organization in N1E-115 cells. *J Pineal Res.* 2000; 29:8–14.
  67. Benítez-King G, Huerto-Delgadillo L, Antón-Tay F. Melatonin effects on the cytoskeletal organization of MDCK and neuroblastoma N1E-115 cells. *J Pineal Res.* 1990; 9:209–220.
  68. Antón-Tay F, Martínez I, Tovar R, Benítez-King G. Modulation of the subcellular distribution of calmodulin by melatonin in MDCK cells. *J Pineal Res.* 1998a; 24:35–42.
  69. Benítez-King G, Antón-Tay F. Calmodulin mediates melatonin cytoskeletal effects. *Experientia.* 1993a; 49:635–641.
  70. Benítez-King G. Melatonin as a cytoskeletal modulator: implications for cell physiology and disease. *J Pineal Res.* 2006; 40:1–9.
  71. Huerto-Delgadillo L, Antón-Tay F, Benítez-King G. Effects of melatonin on microtubule assembly depend on hormone concentration: role of melatonin as a calmodulin antagonist. *J Pineal Res.* 1994; 17:55–62.
  72. Antón-Tay F, Ramírez G, Martínez I, Benítez-King G. In vitro stimulation of protein kinase C by melatonin. *Neurochem Res.* 1998b; 23:601–606.
  73. Bellon A, Ortíz-López L, Ramírez-Rodríguez G, Antón-Tay F, Benítez-King G. Melatonin induces neuritogenesis at early stages in N1E-115 cells through actin rearrangements via activation of protein kinase C and Rho-associated kinase. *J Pineal Res.* 2007; 42:214–221.
  74. Benítez-King G, Hernández ME, Tovar R, Ramírez G. Melatonin activates PKC-alpha but not PKC- epsilon in N1E-115 cells. *Neurochem Int.* 2001; 39:95–102.
  75. Bordt SL, McKeon RM, Li PK, Witt-Enderby PA, Melan MA. N1E-115 mouse neuroblastoma cells express MT1 melatonin receptors and produce neurites in response to melatonin. *Biochim Biophys Acta.* 2001; 1499:257–264.
  76. Brydon L, Roka F, Petit L, de Coppet P, Tissot M, Barrett P, Morgan PJ, Nanoff C, Strosberg AD, Jockers R. Dual signaling of human Mel1a melatonin receptors via G(i2), G(i3), and G(q/11) proteins. *Mol Endocrinol.* 1999; 13:2025–2038.
  77. Witt-Enderby PA, MacKenzie RS, McKeon RM, Carroll EA, Bordt SL, Melan MA. Melatonin induction of filamentous structures in non-neuronal cells that is dependent on expression of the human mt1 melatonin receptor. *Cell Motil*

- Cytoskeleton. 2000; 46:28–42.
78. Gilmore JH. NIH Public Access. North. 2008;29(10):1883–9.
  79. Von Bernhardt M. R. Mecanismos neurobiológicos de la enfermedad de Alzheimer. Rev Chil Neuropsiquiatr. 2005;43(2):123–32. 78.
  80. Cascales M, González P. Factores implicados en la patogénesis de la enfermedad de alzheimer. Estrés oxidativo. Real Acad Nac Farm [Internet]. 2009;417–66. Available from: <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/822/792>
  81. Deng Y, Xiong Z, Chen P, et al. beta-amyloid impairs the regulation of N-methyl-D- aspartate receptors by glycogen synthase kinase 3. Neurobiol Aging 2014;35:449-459.
  82. Rockenstein E, Torrance M, Adame A, et al. Neuroprotective effects of regulators of the glycogen synthase kinase-3beta signaling pathway in a transgenic model of Alzheimer's disease are associated with reduced amyloid precursor protein phosphorylation. J Neurosci 2007;27:1981-1991.
  83. Ly PT, Wu Y, Zou H, et al. Inhibition of GSK3beta-mediated BACE1 expression reduces Alzheimer-associated phenotypes. J Clin Invest 2013;123:224-235.
  84. Avrahami L, Licht-Murava A, Eisenstein M, et al. GSK-3 inhibition: achieving moderate efficacy with high selectivity. Biochim Biophys Acta 2013;1834:1410-1414.
  85. Leroy K, Yilmaz Z , Brion JP. Increased level of active GSK-3beta in Alzheimer's disease and accumulation in argyrophilic grains and in neurones at different stages of neurofibrillary degeneration. Neuropathol Appl Neurobiol 2007;33:43-55.
  86. Chinchalongporn V, Shukla M, Govitrapong P, Academy CR, Govitrapong P, Academy CR. Melatonin ameliorates Aβ42-induced alteration of βAPP processing secretases via the melatonin receptor through the Pin1/ GSK3β/ NF-κB pathway in SH-SY5Y cells. 2018;(662):0–2.
  87. Mattson MP , Camandola S. NF-kappaB in neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. J Clin Invest 2001;107:247-254.
  88. Chen CH, Zhou W, Liu S, et al. Increased NF-kappaB signalling up-regulates BACE1 expression and its therapeutic potential in Alzheimer's disease. Int J Neuropsychopharmacol 2012;15:77-90.
  89. Zhang YY, Fan YC, Wang M, et al. Atorvastatin attenuates the production of IL-1beta, IL-6, and TNF-alpha in the hippocampus of an amyloid beta1-42-induced rat model of Alzheimer's disease. Clin Interv Aging 2013;8:103-110.
  90. Kim HG, Moon M, Choi JG, et al. Donepezil inhibits the amyloid-beta oligomer-induced microglial activation in vitro and in vivo. Neurotoxicology 2014;40:23-32.

91. Ibarra MS, Borini Etichetti C, Di Benedetto C, et al. Dynamic regulation of Pin1 expression and function during zebrafish development. *PLoS One* 2017;12:e0175939
92. Lee TH, Pastorino L, Lu KP. Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase Pin1 in ageing, cancer and Alzheimer disease. *Expert Rev Mol Med* 2011;13:e21.
93. Pastorino L, Kondo A, Zhou XZ, et al. Pin1 protects against Alzheimer's disease: one goal, multiple mechanisms. In, 2013.
94. Pastorino L, Sun A, Lu PJ, et al. The prolyl isomerase Pin1 regulates amyloid precursor protein processing and amyloid-beta production. *Nature* 2006;440:528-534.
95. Driver JA, Lu KP. Pin1: a new genetic link between Alzheimer's disease, cancer and aging. *Curr Aging Sci* 2010;3:158-165.
96. Ryo A, Suizu F, Yoshida Y, et al. Regulation of NF-kappaB signaling by Pin1-dependent prolyl isomerization and ubiquitin-mediated proteolysis of p65/RelA. *Mol Cell* 2003;12:1413-1426.
97. Ma SL, Pastorino L, Zhou XZ, et al. Prolyl isomerase Pin1 promotes amyloid precursor protein (APP) turnover by inhibiting glycogen synthase kinase-3beta (GSK3beta) activity: novel mechanism for Pin1 to protect against Alzheimer disease. *J Biol Chem* 2012;287:6969-6973.
98. Pastorino L, Ma SL, Balastik M, et al. Alzheimer's disease-related loss of Pin1 function influences the intracellular localization and the processing of AbetaPP. *J Alzheimers Dis* 2012;30:277-297.
99. Driver JA, Zhou XZ, Lu KP. Regulation of protein conformation by Pin1 offers novel disease mechanisms and therapeutic approaches in Alzheimer's disease. *Discov Med* 2014;17:93-99.
100. Wang XL, Liu Q, Chen GJ, et al. Overexpression of MTERF4 promotes the amyloidogenic processing of APP by inhibiting ADAM10. *Biochem Biophys Res Commun* 2017;482:928-934.
101. Zhou J, Zhang S, Zhao X, Wei T. Melatonin impairs NADPH oxidase assembly and decreases superoxide anion production in microglia exposed to amyloid-beta1-42. *J Pineal Res* 2008;45:157-165.
102. Jang MH, Jung SB, Lee MH, Kim CJ, Oh YT, Kang I, Kim J, Kim EH. Melatonin attenuates amyloid beta25-35-induced apoptosis in mouse microglial BV2 cells. *Neurosci Lett* 2005;380:26-31.
103. Zhou J, Zhang S, Zhao X, Wei T. Melatonin impairs NADPH oxidase assembly and decreases superoxide anion production in microglia exposed to amyloid-beta1-42. *J Pineal Res* 2008;45:157-165.

104. Ali T, Kim MO. Melatonin ameliorates amyloid beta- induced memory deficits, tau hyperphosphorylation and neuro- degeneration via PI3/Akt/GSk3beta pathway in the mouse hip- pocampus. *J Pineal Res* 2015;59(1):47–59.
105. Mattson MP, Rydel RE. Alzheimer's disease. Amyloid ox–tox transducers. *Nature* 1996; 382:674–675.
106. Rosales-Corral S, Tan DX, Reiter RJ et al. Kinetics of the neuroinflammation-oxidative stress correlation in rat brain following the injection of fibrillar amyloid-beta onto the hippocampus in vivo. *J Neuroimmunol* 2004; 150:20–28.
107. Weldon DT, Rogers SD, Ghilardi JR et al. Fibrillar beta- amyloid induces microglial phagocytosis, expression of inducible nitric oxide synthase, and loss of a select population of neurons in the rat CNS in vivo. *J Neurosci* 1998; 18:2161– 2173.
108. Yan SD, Chen X, Fu J et al. RAGE and amyloid-beta peptide neurotoxicity in Alzheimer's disease. *Nature* 1996; 382:685–691.
109. Serrano F, Chang A, Hernandez C et al. NADPH oxidase mediates beta-amyloid peptide-induced activation of ERK in hippocampal organotypic cultures. *Mol Brain* 2009; 2:31–41.
110. Lecanu L, Greeson J, Papadopoulos V. Beta-amyloid and oxidative stress jointly induce neuronal death, amyloid deposits, gliosis, and memory impairment in the rat brain. *Pharmacology* 2006; 76:19–33.
110. Shelat PB, Chalimoniuk M, Wang JH et al. Amyloid beta peptide and NMDA induce ROS from NADPH oxidase and AA release from cytosolic phospholipase A2 in cortical neu- rons. *J Neurochem* 2008; 106:45–55.
111. Roher AE, Weiss N, Kokjohn TA et al. Increased A beta peptides and reduced cholesterol and myelin proteins char- acterize white matter degeneration in Alzheimer's disease. *Biochemistry (Mosc)* 2002; 41:11080–11090.
112. Jekabsone A, Mander PK, Tickler A et al. Fibrillar beta- amyloid peptide Abeta1–40 activates microglial proliferation via stimulating TNF-alpha release and H2O2 derived from NADPH oxidase: a cell culture study. *J Neuroinflammation* 2006; 3:24–37.
113. Shimohama S, Tanino H, Kawakami N et al. Activation of NADPH oxidase in Alzheimer's disease brains. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 273:5–9.
114. Melov S, Adlard PA, Morten K et al. Mitochondrial oxidative stress causes hyperphosphorylation of tau. *PLoS ONE* 2007; 2:e536–e548.
115. Takuma K, Yao J, Huang J et al. ABAD enhances Abeta- induced cell stress via mitochondrial dysfunction. *FASEB J* 2005; 19:597–598.
116. Yao J, Irwin RW, Zhao L et al. Mitochondrial bioenergetic deficit precedes Alzheimer's pathology in female mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106:14670–14675.

117. Hsu MJ, Sheu JR, Lin CH et al. Mitochondrial mechanisms in amyloid beta peptide-induced cerebrovascular degeneration. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1800:290–296.
119. Misonou H, Morishima-Kawashima M, Ihara Y. Oxidative stress induces intracellular accumulation of amyloid beta-protein (A $\beta$ ) in human neuroblastoma cells. *Biochemistry (Mosc)* 2000; 39:6951–6959.
120. Butterfield DA, Boyd-Kimball D. The critical role of methionine 35 in Alzheimer's amyloid beta-peptide (1–42)-induced oxidative stress and neurotoxicity. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1703:149–156.
121. Dewitt DA, Perry G, Cohen M et al. Astrocytes regulate microglial phagocytosis of senile plaque cores of Alzheimer's disease. *Exp Neurol* 1998; 149:329–340.
122. Boche D, Cunningham C, Docagne F et al. TGF $\beta$ 1 regulates the inflammatory response during chronic neurodegeneration. *Neurobiol Dis* 2006; 22:638–650.
123. Gee JR, Keller JN. Astrocytes: regulation of brain homeostasis via apolipoprotein E. *Int J Biochem Cell Biol* 2005; 37:1145–1150.
124. Chow SK, Yu D, Macdonald CL et al. Amyloid beta-peptide directly induces spontaneous calcium transients, delayed intercellular calcium waves and gliosis in rat cortical astrocytes. *ASN Neuro* 2010; 2:e00026.
125. Peters JL, Earnest BJ, Tjalkens RB et al. Modulation of intercellular calcium signaling by melatonin in avian and mammalian astrocytes is brain region-specific. *J Comp Neurol* 2005; 493:370–380.
126. Das A, Belagodu A, Reiter RJ et al. Cytoprotective effects of melatonin on C6 astroglial cells exposed to glutamate excitotoxicity and oxidative stress. *J Pineal Res* 2008; 45:117–124.
127. Wu YH, Feenstra MG, Zhou JN, Liu RY, Torano JS, Van Kan HJ, Fischer DF, Ravid R, Swaab DF. Molecular changes underlying reduced pineal melatonin levels in Alzheimer disease: alterations in preclinical and clinical stages. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:5898–5906.
128. Zhou JN, Liu RY, Kamphorst W, Hofman MA, Swaab DF. Early neuropathological Alzheimer's changes in aged individuals are accompanied by decreased cerebrospinal fluid melatonin levels. *J Pineal Res* 2003; 35:125–130.
129. Zhong G, Naismith SL, Rogers NL, Lewis SJ. Sleep-wake disturbances in common neurodegenerative diseases: a closer look at selected aspects of the neural circuitry. *J Neurol Sci* 2011; 307:9–14.
130. Gauthier S, Reisberg B, Zaudig M, Petersen RC, Ritchie K, Broich K, Belleville S, Brodaty H, Bennett D, Chertkow H, Cummings JL, de León M, Feldman H, Ganguli M, Hampel H, Scheltens P, Tierney MC, Whitehouse P, Winblad B. Mild cognitive impairment. *Lancet* 2006; 367:1262–1270.

131. Monti JM, Alvarino F, Cardinali DP, Savio I, Pintos A. Polysomnographic study of the effect of melatonin on sleep in elderly patients with chronic primary insomnia. *Arch Gerontol Geriatr* 2009; 28:85–98.
132. Thomas B, Mohanakumar KP. Melatonin protects against oxidative stress caused by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine in the mouse nigrostriatum. *J Pineal Res* 2004; 36:25–32.
133. Dabbeni-Sala F, Di Santo S, Franceschini D, Skaper SD, Giusti P. Melatonin protects against 6-OHDA-induced neurotoxicity in rats: a role for mitochondrial complex I activity. *FASEB J* 2001; 15(1):164–170.
134. Kim YS, Joo WS, Jin BK, Cho YH, Baik HH, Park CW. Melatonin protects 6-OHDA-induced neuronal death of nigrostriatal dopaminergic system. *Neuroreport* 1998; 9(10):2387–2390.
135. Mayo JC, Sainz RM, Uria H, Antolin I, Esteban MM, Rodriguez C. Melatonin prevents apoptosis induced by 6-hydroxydopamine in neuronal cells: implications for Parkinson's disease. *J Pineal Res* 1998; 24(3):179–192.
136. Lin C-H, Huang J-Y, Ching C-H, Chuang J-I. Melatonin reduces the neuronal loss, downregulation of dopamine transporter, and upregulation of D2 receptor in rotenone-induced parkinsonian rats. *J Pineal Res* 2008; 44(2):205–213.
137. Carriere CH, Kang NH, Niles LP. Chronic low-dose melatonin treatment maintains nigrostriatal integrity in an intrastriatal rotenone model of Parkinson's disease. *Brain Res* 2016; 1633:115–125.
138. Coulom H, Birman S. Chronic exposure to rotenone models sporadic Parkinson's disease in *Drosophila melanogaster*. *J Neurosci* 2004; 24(48):10993–10998.
139. Woolverton WL, Ricaurte GA, Forno LS, Seiden LS. Long-term effects of chronic methamphetamine administration in rhesus monkeys. *Brain Res* 1989; 486(1):73–78.
140. Volkow ND, Chang L, Wang GJ, Fowler JS, Franceschi D, Sedler M, Gatley SJ, Miller E, Hitzemann R, Ding YS, Logan J. Loss of dopamine transporters in methamphetamine abusers recovers with protracted abstinence. *J Neurosci* 2001; 21(23):9414–9418.
141. Mauceli G, Busceti CI, Pellegrini A, Soldani P, Lenzi P, Paparelli A, Fornai F. Overexpression of alpha-synuclein following methamphetamine: is it good or bad? *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1074:191–197.
142. Chuang JI, Pan IL, Hsieh CY, Huang CY, Chen PC, Shin JW. Melatonin prevents the dynamin-related protein 1-dependent mitochondrial fission and oxidative insult in the cortical neurons after 1-methyl-4-phenylpyridinium treatment. *J Pineal Res* 2016; 61(2):230–240.
143. Chetsawang J, Govitrapong P, Chetsawang B. Melatonin inhibits MPP+induced

- caspase-mediated death pathway and DNA fragmentation factor-45 cleavage in SK-N-SH cultured cells. *J Pineal Res* 2007;43:115–120.
144. Chetsawang B, Govitrapong P, Ebadi M. The neuroprotective effect of melatonin against the induction of c-Jun phosphorylation by 6-hydroxydopamine on SK-N-SH cells. *Neurosci Lett* 2004;371:205–208.
  145. Jou MJ, Peng TI, Reiter RJ, Jou SB, Wu HY, Wen ST. Visualization of the antioxidative effects of melatonin at the mitochondrial level during oxidative stress-induced apoptosis of rat brain astrocytes. *J Pineal Res* 2004;37:55–70.
  146. Willis GL, Armstrong SM. A therapeutic role for melatonin antagonism in experimental models of Parkinson's disease. *Physiol Behav* 1999; 66:785–795.
  147. Tapias V, Cannon JR, Greenamyre JT. Melatonin treatment potentiates neurodegeneration in a rat rotenone Parkinson's disease model. *J Neurosci Res* 2010; 88:420–427.
  148. Willis GL, Robertson AD. Recovery of experimental Parkinson's disease with the melatonin analogues ML-23 and S-20928 in a chronic, bilateral 6-OHDA model: a new mechanism involving antagonism of the melatonin receptor. *Pharmacol Biochem Behav* 2004; 79:413–429.
  149. Group. HsDCR: A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded on Huntington's disease chromosomes. *Cell* 1993; 72:971–983.
  150. Browne SE, Beal MF. Oxidative damage in Huntington's disease pathogenesis. *Antioxid Redox Signal* 2006; 8:2061–2073.
  151. Oliveira JM. Nature and cause of mitochondrial dysfunction in Huntington's disease: focusing on huntingtin and the striatum. *J Neurochem* 2010; 114:1–12.
  152. Melchiorri D, Reiter RJ, Sewerynek E, Chen LD, Nistico G. Melatonin reduces kainate-induced lipid peroxidation in homogenates of different brain regions. *FASEB J* 1995; 9(12):1205–1210.
  153. Melchiorri D, Reiter RJ, Chen LD, Sewerynek E, Nistico G. Melatonin affords protection against kainate-induced in vitro lipid peroxidation in brain. *Eur J Pharmacol* 1996; 305(1–3):239–242.
  154. Giusti P, Lipartiti M, Gusella M, Floreani M, Manev H. In vitro and in vivo protective effects of melatonin against glutamate oxidative stress and neurotoxicity. *Ann N Y Acad Sci* 1997; 825:79–84.
  155. Lezoualc'h F, Skutella T, Widmann M, Behl C. Melatonin prevents oxidative stress-induced cell death in hippocampal cells. *Neuroreport* 1996; 7(13):2071–2077.
  156. Manev H, Uz T, Kharlamov A, Cagnoli CM, Franceschini D, Giusti P. In vivo protection against kainate-induced apoptosis by the pineal hormone melatonin: effect of exogenous melatonin and circadian rhythm. *Restor Neurol Neurosci* 1996; 9(4):251–256.

157. Uz T, Giusti P, Franceschini D, Kharlamov A, Manev H. Protective effect of melatonin against hippocampal DNA damage induced by intraperitoneal administration of kainate to rats. *Neuroscience* 1996; 73(3):631–636.
158. Tan DX, Manchester LC, Reiter RJ, Qi W, Kim SJ, ElSokkary GH. Melatonin protects hippocampal neurons in vivo against kainic acid-induced damage in mice. *J Neurosci Res* 1998; 54(3):382–389.
159. Tunez I, Montilla P, Del Carmen Munoz M, Feijoo M, Salcedo M. Protective effect of melatonin on 3-nitropropionic acid-induced oxidative stress in synaptosomes in an animal model of Huntington's disease. *J Pineal Res* 2004; 37(4):252–256.
160. Mu S, OuYang L, Liu B, Zhu Y, Li K, Zhan M, Liu Z, Jia Y, Lei W. Protective effect of melatonin on 3-NP induced striatal interneuron injury in rats. *Neurochem Int* 2011; 59(2):224–234.
161. Nam E, Lee SM, Koh SE, Joo WS, Maeng S, Im HI, Kim YS. Melatonin protects against neuronal damage induced by 3-nitropropionic acid in rat striatum. *Brain Res* 2005; 1046(1–2):90–96.
162. Mu S, Lin E, Liu B, Ma Y, OuYang L, Li Y, Chen S, Zhang J, Lei W. Melatonin reduces projection neuronal injury induced by 3-nitropropionic acid in the rat striatum. *Neurodegener Dis* 2014; 14(3):139–150.
163. Wang X, Sirianni A, Pei Z, Cormier K, Smith K, Jiang J, Zhou S, Wang H, Zhao R, Yano H, Kim JE, Li W, Kristal BS, Ferrante RJ, Friedlander RM. The melatonin MT1 receptor axis modulates mutant Huntingtin-mediated toxicity. *J Neurosci* 2011; 31:14496–14507.
164. Gerber YN, Privat A, Perrin FE. Gacyclidine improves the survival and reduces motor deficits in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Front Cell Neurosci* [Internet]. 2013;7(December):1–9. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fncel.2013.00280/abstract>.
165. Weishaupt JH, Bartels C, Polking E, Dietrich J, Rohde G, Poeggeler B, Mertens N, Weishaupt JH, Sperling S, Bohn M, Huther G, et al. Reduced oxidative damage in ALS by high-dose enteral melatonin treatment. *J Pineal Res* 2006;41:313–323.
166. Rogerio F, Teixeira SA, de Rezende AC, de Sa RC, de Souza Queiroz L, De Nucci G, Muscara MN, Langone F. Superoxide dismutase isoforms 1 and 2 in lumbar spinal cord of neonatal rats after sciatic nerve transection and melatonin treatment. *Brain Res Dev Brain Res* 2005;154:217–225.

