



**FACULTAD DE MEDICINA**

**UNIVERSIDAD DE CANTABRIA**

**GRADO EN MEDICINA**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**PAPEL DE LA MELATONINA EN LA ENFERMEDAD DE  
ALZHEIMER Y OTRAS ENFERMEDADES  
NEURODEGENERATIVAS**

**ROLE OF MELATONIN IN ALZHEIMER DISEASE AND  
OTHER NEURODEGENERATIVE DISEASES**

**Autor: Dña. Eva Sampedro Núñez**

**Director: Dña. Noemí Rueda Revilla**

**Santander, Junio 2015**

**CONTENIDO**

<b>1. ABSTRACT.....</b>	<b>3</b>
<b>2. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>4</b>
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>5</b>
<b>4. METODOLOGÍA .....</b>	<b>5</b>
<b>5. LA MELATONINA.....</b>	<b>7</b>
<b>6. MECANISMOS DE ACCIÓN DE LA MELATONINA .....</b>	<b>8</b>
<b>6.1 ACCIÓN ANTIOXIDANTE .....</b>	<b>8</b>
<b>6.2 ACCIÓN ANTIAPOPTÓTICA .....</b>	<b>10</b>
<b>6.3 OTRAS ACCIONES.....</b>	<b>11</b>
<b>7. PAPEL DE LA MELATONINA EN LAS ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS .....</b>	<b>12</b>
<b>7.1 ENFERMEDAD DE ALZHEIMER (EA).....</b>	<b>13</b>
<b>7.1.1. El papel de la melatonina sobre la toxicidad por <math>\beta</math>-Amiloide (<math>A\beta</math>).....</b>	<b>16</b>
<b>7.1.2 El papel de la Melatonina en la hiperfosforilación de TAU.....</b>	<b>19</b>
<b>7.1.2 El papel de la Melatonina sobre el sistema colinérgico .....</b>	<b>21</b>
<b>7.1.3 El papel de la Melatonina en la neuroinflamación .....</b>	<b>23</b>
<b>7.1.4 Papel futuro de la Melatonina en la EA .....</b>	<b>24</b>
<b>7.2 ENFERMEDAD DE PARKINSON (EP) .....</b>	<b>26</b>
<b>7.3 ENFERMEDAD DE HUNTINGTON (EH).....</b>	<b>29</b>
<b>7.4 ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA (ELA).....</b>	<b>31</b>
<b>8. CONCLUSIONES.....</b>	<b>32</b>
<b>9. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>34</b>
<b>10. AGRADECIMIENTOS .....</b>	<b>54</b>

## 1. ABSTRACT

Las enfermedades neurodegenerativas son enfermedades crónicas y progresivas caracterizadas por la destrucción selectiva de neuronas motoras, sensitivas y sistemas cognitivos. A pesar de que los mecanismos etiopatogénicos de muchas de ellas no se conocen con exactitud, el acúmulo de radicales libres y el consiguiente daño tisular son fenómenos fisiopatológicos comunes a todas ellas. En los últimos años, se han realizado muchos trabajos de investigación que demuestran que la melatonina posee propiedades neuroprotectoras frente a todos estos procesos que afectan al sistema nervioso, gracias a sus acciones antioxidantes, antiapoptóticas y antiinflamatorias. Además, la mayor parte de los estudios realizados en modelos animales de diferentes neuropatologías apoya su uso como potencial tratamiento preventivo de los principales trastornos neurodegenerativos. Esta revisión resume el conocimiento actual sobre los efectos protectores demostrados por la melatonina en la enfermedad de Alzheimer (EA), la enfermedad de Parkinson (EP), la enfermedad de Huntington (EH) y la esclerosis lateral amiotrófica (ELA). En la actualidad se requieren estudios adicionales para probar la eficacia clínica de la administración de melatonina en estos trastornos y para identificar las concentraciones terapéuticas específicas necesarias.

**Palabras clave:** melatonina, neurodegeneración, Enfermedad de Alzheimer, Enfermedad de Parkinson, Enfermedad de Huntington y Esclerosis Lateral Amiotrófica

Neurodegenerative diseases are chronic and progressive disorders that involve the selective destruction of neurons in motor, sensory and cognitive systems. In spite of not knowing the exact etiopathogenic mechanisms of many of them, it has been observed that the accumulation of free radicals and subsequent tissue damage are common phenomena in all of them. Recently, many research studies have revealed that melatonin has neuroprotective properties against all these nervous system-related processes due to its antioxidative, antiapoptotic and anti-inflammatory actions. Furthermore, most of the studies carried out on multiple neurodegenerative animal models supports the potential use of melatonin for the preventive treatment of the main neurodegenerative diseases. This review summarizes the current knowledge about the protective effects of melatonin on Alzheimer disease (AD), Parkinson disease (PD), Huntington disease (HD) and Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS). Currently, further studies are required to test the clinical efficiency of melatonin administration in these disorders and to identify the specific therapeutic concentrations needed.

**Key words:** melatonin, neurodegeneration, Alzheimer disease, Parkinson disease, Huntington disease, Amyotrophic Lateral Sclerosis.

## 2. INTRODUCCIÓN

El progresivo envejecimiento de la población que cada vez más países industrializados sufren, conlleva consigo una mayor incidencia y prevalencia de múltiples patologías crónicas. Por tanto, en este contexto se estima que un porcentaje cercano al 20% de la población mundial sufrirá en el futuro alguna enfermedad neurodegenerativa, siendo las más frecuentes la enfermedad de Alzheimer (EA), la enfermedad de Parkinson (EP), la enfermedad de Huntington (EH) y la esclerosis lateral amiotrófica (ELA).

Estas patologías se caracterizan por la destrucción selectiva de poblaciones neuronales (principalmente motoneuronas y neuronas sensitivas), provocando en última instancia el deterioro de diversos sistemas cognitivos. A pesar de los diferentes mecanismos etiopatogénicos que cada una de estas enfermedades neurodegenerativas posee, la acumulación de radicales libres en los diferentes tejidos, especialmente en el sistema nervioso (SN), es un mecanismo común a todas ellas (1).

La especial susceptibilidad del SN al estrés oxidativo se debe, en parte, a su alto contenido en lípidos y su activo metabolismo aerobio. El estrés oxidativo es causado por un desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno y la capacidad del sistema biológico para eliminar rápidamente estas especies reactivas o reparar el daño resultante. Dicho desequilibrio se debe a un aumento en la actividad del metabolismo oxidativo. Al aumentar las necesidades energéticas se ponen en marcha vías aeróbicas que incrementan la concentración intracelular de radicales libres de oxígeno (ROS), que a su vez aumentan la velocidad del proceso autocatalítico de la peroxidación lipídica, inducen daño a estructuras, inhiben la respiración celular, alteran la secuencia del ADN (p. ej. mediante mutaciones en pares de bases, deleciones, inserciones, amplificación de secuencias) y modifican la estructura de proteínas (2)(3).

Diversos estudios demuestran que durante los procesos neurodegenerativos, el estrés oxidativo influye de manera muy importante sobre la función de las mitocondrias (2)(3), activando la síntesis y secreción de grandes cantidades de anión superóxido por parte de dichas organelas citoplásmáticas e impidiendo que éstas puedan ser detoxificadas eficientemente por el sistema antioxidante (*scavengers* de radicales libres, quelantes de metales, enzimas metabólicos y la propia cadena respiratoria mitocondrial) (1). Por tanto, si la mitocondria no funciona correctamente, habrá un desequilibrio entre las especies reactivas de oxígeno y el sistema antioxidante (4).

Existen tanto condiciones fisiológicas como patológicas (envejecimiento, cáncer, inflamación crónica, etc.)(5)(6) en las cuales la homeostasis entre la producción de especies oxidativas y la activación de fenómenos antioxidantes se pierde, bien debido a un exceso de partículas oxidantes o bien a una disminución de antioxidantes endógenos. Esta pérdida de la homeostasis da lugar a múltiples efectos citotóxicos que juegan un papel determinante en la fisiopatología de estas enfermedades (7).

La defensa contra todos estos fenómenos oxidativos depende de la capacidad de varios antioxidantes derivados directa o indirectamente de la dieta (8). Los antioxidantes no buscan la eliminación completa de las especies reactivas de oxígeno, sino simplemente

mantenerlas en un nivel óptimo, ya que las moléculas oxidativas juegan también un papel muy importante dentro de las células al intervenir en la señalización redox.

Muchas son las moléculas con potencial efecto antioxidante que se han propuesto con afán de tratar, o simplemente paliar, los síntomas derivados de enfermedades donde el desequilibrio entre especies oxidantes y antioxidantes es uno de sus mecanismos patogénicos más importantes, como por ejemplo en las enfermedades neurodegenerativas. Durante la discusión de este trabajo, en concreto, nos centraremos en el papel neuroprotector de la melatonina sobre las enfermedades neurodegenerativas.

### 3. OBJETIVOS

Dada la capacidad de la melatonina para mantener la integridad celular y su baja toxicidad, se ha investigado mucho en los últimos años sobre su uso como posible estrategia terapéutica para el tratamiento de diversas neuropatologías en las que la acumulación de los ROS juega un papel importante. Por tanto, el objetivo principal de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica rigurosa y sistematizada con el fin de conocer los efectos neuroprotectores de la melatonina, así como sus posibles aplicaciones clínicas en diversas enfermedades neurodegenerativas.

### 4. METODOLOGÍA

Con el fin de conocer si realmente la melatonina es capaz de influir en el curso clínico de las enfermedades neurodegenerativas, se decide realizar una revisión bibliográfica sistemática de la literatura publicada hasta el momento sobre el papel de la melatonina fundamentalmente en la Enfermedad de Alzheimer (EA) y de forma secundaria en: la Enfermedad de Parkinson (EP), la Enfermedad de Huntington (EH) y la Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA).

Todos los artículos encontrados estaban publicados en inglés, sin que necesariamente la nacionalidad de los autores de cada uno de ellos pertenezca a países de habla inglesa.

Como **descriptores** para buscar en las diferentes bases de datos se han utilizado las palabras clave que vienen reflejadas en el abstract de este trabajo, cada una de ellas tanto de forma individual como de forma combinada.

Las **fuentes de información** que han sido consultadas para la realización de este trabajo son las siguientes:

- Revista Científica:
  - **Journal of Pineal research:** Revista de carácter científico publicada por John Wiley & Sons desde 1984 y que se centra en la investigación sobre la glándula pineal y sus productos hormonales, principalmente la melatonina, en todas las especies de vertebrados. El editor jefe de la revista es Russel J. Reiter. Según el

Journal Citation Reports, la revista tuvo un factor de impacto en 2.013 de 7.812, lo que la sitúa en el tercer puesto de 81 revistas en la categoría "Fisiología", 8º de 123 revistas en la categoría de "Endocrinology & Metabolism" y 18º de 251 revistas en la categoría de "Neurociencias". En este trabajo ha sido revisada para hablar de las características bioquímicas y fisiológicas de la melatonina, y de las implicaciones de esta hormona en la EA.

- Bases de datos:
  - **PubMed:** plataforma de libre acceso a la base de datos de artículos de investigación en biomedicina (MEDLINE). Fue creada por la National Center for Biotechnology Information (NCBI) en EEUU (en la National Library of Medicine) y lanzada al uso público en enero de 1996.
  - **Wiley Online Library:** editorial internacional de revistas científicas, técnicas médicas y académicas fundada por John Wiley & Sons.
  - **Springer Link:** Se trata de una base de datos científica englobada en **Springer Science+Business Media o Springer**, una editorial que publica libros, libros electrónicos y publicaciones científicas de revisión por pares relacionados con ciencia, tecnología y medicina.

Para realizar este trabajo se ha utilizado el gestor bibliográfico "Mendeley" para ordenar las referencias bibliográficas, las cuales han sido citadas en estilo "Vancouver".

Utilizando como descriptores las palabras clave se accedió a gran cantidad de artículos relacionados tanto con la melatonina como con las diferentes enfermedades neurodegenerativas de las que vamos a hablar, pero solo 7 artículos publicados entre los años 2009 y 2014 han sido seleccionados para realizar el presente trabajo, siendo éstos los de más reciente publicación y que más se adecuaban al tema a desarrollar. No obstante se tuvieron en cuenta también, aquellos artículos que sin tener estricta relación con el objetivo mencionado, aportaban información relevante sobre la melatonina y el proceso de neurodegeneración en general, y cuya información ha resultado ser útil para completar este trabajo.

De los 7 artículos seleccionados, 5 se obtuvieron mediante la base de datos "PubMed", 1 de la editorial "Wiley Online Library" y el séptimo artículo de la base de datos "Springer Link", siendo todos ellos de acceso bajo pago y proporcionados por la directora del trabajo.

Este trabajo consta de 223 referencias bibliográficas, ya que durante la lectura de los 7 artículos utilizados, se extrajeron ideas que los autores de los mismos habían tomado de otros artículos. Se decide citar esas referencias origen con el fin de que al lector le resulte más fácil el acceso a la información utilizada.

## 5. LA MELATONINA

La melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) se encuentra de forma ubicua en el cuerpo. Su síntesis se produce principalmente en la glándula pineal de los mamíferos durante la fase oscura. Se obtiene a partir del aminoácido triptófano mediante un proceso de múltiples etapas, en el que también está implicada la serotonina (neurotransmisor precursor de la melatonina). La mayoría de la melatonina sintetizada de forma endógena en la glándula pineal se libera directamente al líquido cefalorraquídeo (LCR) del tercer ventrículo cerebral y desde éste se distribuye por el tejido nervioso circundante. Sin embargo, la síntesis de melatonina no depende exclusivamente de la glándula pineal, sino que otros órganos y tejidos como la retina, el intestino, los ovarios, los testículos, la médula ósea y el cristalino también tienen la capacidad de sintetizarla y liberarla directamente a la sangre capilar, lo cual le permite llegar a todos los tejidos del organismo. Esto explica que los niveles de melatonina, aunque más bajos, no se encuentren totalmente abolidos en ratas que han sido pinealectomizadas (9). Esta capacidad de la melatonina para distribuirse por todo el organismo sugiere la participación de esta molécula en diferentes funciones celulares y tisulares, hasta el momento desconocidas que van más allá de sus funciones clásicas como hormona (9).

Dado que se trata de una molécula anfifílica en cuanto a su estructura bioquímica, una vez sintetizada (o tras su administración exógena) pasa con facilidad a través de cualquier barrera fisiológica (p.ej. la barrera hemato-encefálica) llegando a todos los compartimentos celulares y fluidos corporales.

El funcionamiento y las propiedades de la melatonina dependen de los receptores sobre los que actúa. Existen dos tipos diferentes de receptores de la melatonina, los acoplados a proteínas G y los receptores nucleares (RZR/ROR). Los receptores de membrana pertenecen a la familia de receptores transmembrana de 7 dominios y, según sus propiedades cinéticas y su perfil farmacológico, se clasifican a su vez en dos subtipos: MT1 y MT2 (10). La unión de la melatonina a estos receptores induce la inhibición de la Adenilato Ciclasa (AC), considerándose por esto a MT1 y a MT2 los mediadores primarios de las acciones fisiológicas de la melatonina. MT1 y MT2 se expresan en múltiples tejidos, entre los que se incluyen el sistema nervioso central (SNC) y el sistema nervioso periférico (SNP), lo que apoya aún con más firmeza la teoría de que la melatonina es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica (11).

Se ha descubierto que la melatonina también es capaz de actuar como ligando de los receptores retinoides huérfanos de hormonas esteroideas (RZR-alfa y RZR-beta) que se encuentran en el núcleo de la célula (receptores endonucleares), aunque con mucha menos avidéz por ellos que las propias hormonas esteroideas (12). Al igual que los receptores de membrana, éstos también están presentes tanto en el SNC como en el SNP, con la diferencia de que éstos últimos se encuentran en el núcleo de las células en lugar de en la membrana (13).

Se podría hablar de un tercer receptor de la melatonina en mamíferos (MT3): la quinona oxidorreductasa 2 (QR2 o NAD(P)H) (14). A pesar de que el papel fisiológico de esta enzima no se conoce con exactitud, su inhibición (mediada por la melatonina) parece

tener propiedades antioxidantes y su sobreexpresión puede llegar a causar efectos deletéreos sobre la célula (15).

## **6. MECANISMOS DE ACCIÓN DE LA MELATONINA**

El papel fisiológico de la melatonina en humanos aún no ha sido totalmente esclarecido, sin embargo, la amplia distribución de sus receptores configura un amplio espectro de posibles tejidos diana para esta hormona.

La secreción de melatonina por parte de la glándula pineal ha sido clásicamente asociada con la regulación tanto del ritmo circadiano como del ritmo circanual, así como con diferentes cambios fisiológicos de los animales relacionados con los cambios de estación. Además, se ha visto que la administración exógena de melatonina también puede sincronizar los ritmos biológicos actuando directamente sobre el SNC, concretamente sobre el núcleo supraquiasmático (SCN) del hipotálamo en humanos, que es el que se encarga de la regulación del llamado reloj biológico (13). Por tanto, la melatonina podría convertirse también en un potencial tratamiento de desregulaciones del ciclo circadiano tales como el jet-lag o las alteraciones del sueño tipo insomnio.

Sin embargo, también presenta otras acciones no circadianas que se asemejan a las de cualquier hormona como el control de la termorregulación, la regulación de la respuesta inmune y anti-inflamatoria, la acción antineoplásica y la acción antioxidante.

En concreto, en este trabajo nos hemos centrado en sus acciones neuroprotectoras, que se describen en profundidad en la siguiente sección.

### **6.1 ACCIÓN ANTIOXIDANTE**

Entre sus acciones beneficiosas en el organismo, en los últimos años diversos estudios han demostrado que la melatonina y sus metabolitos actúan como potentes eliminadores de radicales libres y antioxidantes tanto *in vitro* como *in vivo* (15). El papel antioxidante que esta indolamina ejerce sobre el organismo se basa en su capacidad para eliminar radicales libres una vez que se han formado y para regular la actividad de varias enzimas antioxidantes, tales como la superóxido dismutasa (SOD) o la glutatión peroxidasa (GPX) (12) (11). Además, a diferencia de otros antioxidantes, la melatonina no se somete a ciclos redox, sino que una vez que se oxida, no se puede reducir a su estado anterior debido a que forma productos finales estables al reaccionar con los radicales libres. Por lo tanto, se dice que se trata un antioxidante terminal (o suicida) (12).

La extirpación quirúrgica de la glándula pineal en ratas es un procedimiento que, como ya hemos comentado durante la introducción de este trabajo, disminuye los niveles de melatonina endógena en sangre y exacerba el daño molecular causado por los radicales libres. Del mismo modo, al proporcionar suplementos de melatonina durante períodos de producción masiva de radicales libres, se observó que el daño tisular producido era menor que en aquellos modelos experimentales a los que no se les había administrado.

Estos resultados han sido considerados en el contexto de enfermedades neurodegenerativas, cáncer, lesión por isquemia y en el envejecimiento (15).

La presencia en la estructura de la melatonina de un anillo aromático indol rico en electrones que funciona como un donador de éstos, explica su capacidad para reducir y neutralizar los radicales electrofílicos, protegiendo así del daño oxidativo a las proteínas intracelulares, al ADN y a los lípidos. De hecho, estudios experimentales han demostrado que en comparación con los antioxidantes clásicos, la melatonina es significativamente más eficiente. Dado su carácter anfipático, a diferencia de otros scavengers de radicales libres que son bien hidrofílicos o bien lipofílicos, la melatonina puede limitar el daño oxidativo tanto sobre estructuras lipídicas de la célula como en el medio intracelular acuoso (16). Sin embargo, su actividad como antioxidante no se limita únicamente a la eliminación de radicales libres, sino que también participa de forma indirecta en la eliminación de especies oxidantes, al actuar sobre múltiples mecanismos que en última instancia estimulan enzimas con función antioxidante (p.ej. SOD, GPX y glutatión reductasa) (13)(17) e inhibiendo la síntesis de enzimas pro-oxidantes, en particular de la 5-lipooxigenasa, la 12-lipooxigenasa y la óxido nítrico sintasa (iNOS) (18). Además, estudios recientes han demostrado que la melatonina se une de manera efectiva al hierro sintetizado de forma endógena y lo inactiva, impidiendo así que se produzca la reacción de Fenton, mediante la cual se produce un radical libre y un ion hidroxilo (OH) por cada molécula de hierro que se oxida. Por tanto, al inhibir la reacción de Fenton evitamos la consiguiente sobreproducción de ROS (19). La melatonina se metaboliza por el citocromo P-450 en el hígado mediante una reacción enzimática mediada por monooxigenasas. Además del metabolismo hepático, la escisión oxidativa del anillo pirrólico parece ser la principal vía metabólica de la melatonina en otros tejidos, suponiendo alrededor de un tercio del catabolismo total, pero el porcentaje puede ser aún mayor en ciertos tejidos, como por ejemplo en el SNC (21). Dada la capacidad de la melatonina de donar un átomo de hidrogeno al grupo NH del anillo pirrólico, se genera un radical de melatonina capaz de reaccionar con el O<sub>2</sub> y producir N1-acetil-N2-formil-5-metoxiquinurenamina (AFMK) y, tras su deformilación, N1-acetil-5-metoxiquinurenamina (AMK). Los metabolitos AFMK y AMK son a su vez antioxidantes y constituyen, junto con la melatonina, la denominada cascada antioxidante. Tanto AFMK como AMK, al igual que su precursora la melatonina, tienen la capacidad de cruzar fácilmente la barrera hemato-encefálica y formar metabolitos a partir de sus interacciones con ROS y especies reactivas de nitrógeno (RNS) (22). Se ha descubierto recientemente que AMK es mejor antioxidante que su precursor AFMK (23) y un depurador de óxido nítrico (NO) más eficiente que la melatonina. AMK también mostró propiedades anti-inflamatorias debido a su capacidad para inhibir y frenar la actividad de la ciclooxigenasa 2 (COX-2), limitando así la producción de PGE2 (24).

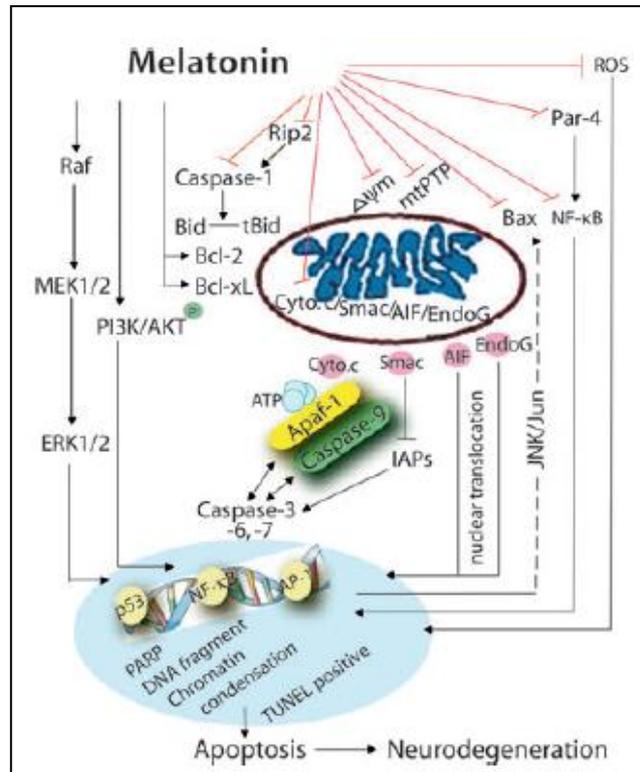
Un gran número de estudios confirman que la melatonina y sus metabolitos poseen un amplio espectro de actividades antioxidantes sin apenas efectos secundarios, incluso a dosis altas (16), y con la ventaja de ser capaz de distribuirse rápidamente por las diferentes estructuras neuronales, lo cual apoya su uso en clínica con el fin de mantener la integridad morfológica y funcional del SNC.

## 6.2 ACCIÓN ANTIAPOPTÓTICA

Por otra parte, cada vez cobra más fuerza la teoría de que la melatonina posee un cierto efecto antiapoptótico, por lo que también podría jugar un papel importante en la prevención y/o tratamiento de las enfermedades neurodegenerativas, en las que la muerte neuronal es uno de los primeros eventos fisiopatológicos que subyace a la neurodegeneración. Esta teoría gira en torno a la inhibición de la vía apoptótica intrínseca y a la activación de vías de señalización de supervivencia por parte de la melatonina en la EA, la EP, la EH y la ELA (17).

En todo proceso neurodegenerativo observamos signos evidentes de muerte celular, cuyo mecanismo de producción puede ser de dos tipos diferentes: apoptosis o necrosis. La apoptosis (también llamada muerte celular programada) ocurre de forma natural tanto en procesos fisiológicos como patológicos, mientras que la necrosis es causada por factores externos tales como infección, toxinas o traumatismos. La apoptosis es característica tanto de procesos agudos como crónicos que tienen lugar en el contexto de las diferentes enfermedades neurodegenerativas del SNC. Dado que no existen estudios que relacionen la inhibición de la vía extrínseca de la apoptosis con la neuroprotección mediada por melatonina, a continuación hablaremos tan sólo de la vía intrínseca (la vía mitocondrial) (18) (Figura 1).

Las moléculas proapoptóticas presentes en la mitocondria (p.ej. el citocromo C), cuando son liberadas desde la membrana mitocondrial a la matriz mitocondrial, activan tanto la vía caspasa-dependiente como la vía de muerte mitocondrial independiente (Fig. 1) (19–26). En especial, la liberación del citocromo C es fundamental para la activación de las caspasas (27), que al inducir la síntesis y liberación de ciertos factores de transcripción que codifican para señales de muerte, acaban produciendo la muerte neuronal de un importante número de células (20). Otros cambios mitocondriales inducidos por la activación de la vía intrínseca de la apoptosis y que, por tanto, influyen en los procesos de neurodegeneración son la formación de poros de permeabilidad transicional mitocondrial (MPTP) y cambios en el potencial de membrana mitocondrial ( $\Delta\Psi_m$ ) (28–30)(21,25,31).



**Figura 1.** Esquema sobre el papel neuroprotector de la melatonina. Posible inhibición de la vía intrínseca de muerte celular y activación de la vía de señales de supervivencia (17).

Es importante conocer todos estos eventos (figura 1) que ponen en marcha ésta vía de muerte celular, en el sentido de que se trata de fenómenos íntimamente relacionados con uno de los más importantes mecanismos fisiopatológicos implicados en la neurodegeneración y sobre los cuales se ha demostrado que actúa la melatonina, al ser capaz ésta de mantener la homeostasis mitocondrial y, en consecuencia, frenar la activación de la cascada apoptótica de la vía intrínseca (32–36).

La forma que tiene la melatonina de frenar dicha activación es inhibiendo la liberación del mediador de muerte celular AIF de la mitocondria (37). Por tanto, la melatonina interfiere con vías de muerte celular mitocondriales tanto dependientes de caspasas (citocromo c) como independientes (AIF). Por otra parte, un adecuado  $\Delta\Psi_m$  es fundamental para mantener una homeostasis bioenergética celular correcta. De modo que la abolición del  $\Delta\Psi_m$  se relaciona con eventos neurodegenerativos. Estudios tanto en neuronas estriatales primarias como corticales primarias han demostrado que la melatonina inhibe la aparición de los eventos fisiopatológicos provocados por la abolición del  $\Delta\Psi_m$  (37). Estos resultados reflejan la capacidad de la melatonina para mejorar los efectos nocivos consecuencia de la reducción del  $\Delta\Psi_m$ , entre los cuales se encuentran la apertura irreversible del MPTP y por tanto, la activación de la cascada de la apoptosis.

La melatonina inhibe también la activación de la caspasa-1 mediada por diversos insultos, así como la liberación de la IL-1 $\beta$  madura (25). Tanto in vitro como in vivo se ha demostrado que la melatonina impide la activación de la caspasa-3, que interviene de forma directa en procesos de muerte celular (25).

El papel neuroprotector de la melatonina también tiene que ver con la activación por parte de ésta de la vía de supervivencia PI3K / Akt (38,39) y de la vía JNK (40). La melatonina protege a las neuronas de cualquier agresión externa promoviendo la activación de Akt y su posterior unión a su diana, Bad. Akt se comporta como un factor antiapoptótico al interactuar con Bad, pues tras su unión mandan señales antiapoptóticas para impedir que la célula se destruya (41). Además, la melatonina inhibe señales de apoptosis al evitar que Raf-1, MEK1/2 y ERK1/2 se fosforilen a pesar de existir un daño que les induzca a ello, evitándose así también que posteriormente se unan a sus dianas, entre las que se incluye Bad (42). También se ha visto que la activación constitutiva de NF- $\kappa$ B por parte de la melatonina, protege a las neuronas contra daños derivados incluso de acciones fisiológicas que tienen lugar en el cerebro y que producen materiales de desecho potencialmente nocivos para las células (43).

### **6.3 OTRAS ACCIONES**

Además de sus acciones neuroprotectoras como antioxidante endógeno y molécula antiapoptótica, la melatonina cuenta con muchas otras propiedades. Algunas de ellas con potencial finalidad terapéutica debido a sus efectos sedantes, ansiolíticos, antidepresivos, anticonvulsiantes o analgésicos (44). Parte de estos efectos son mediados por sus receptores mientras que otros son independientes de éstos. Las acciones de la melatonina independientes de receptor se deben a su unión con la calmodulina y, por

ende, a la inhibición de la calmodulina-quinasa II dependiente de  $Ca^{+2}$  (45) y del flujo de  $Ca^{+2}$  a través de la membrana, dependiente de la proteína quinasa C (PKC) (46).

La melatonina también ha demostrado tener propiedades antiinflamatorias revirtiendo ciertos fenómenos inflamatorios tanto crónicos como agudos, probablemente debido a una interacción directa de esta indolamina con sitios de unión específicos localizados en los linfocitos y en los macrófagos. Datos experimentales y clínicos apoyan que dicha interacción entre la melatonina y las células del sistema inmune reduce la síntesis y liberación de moléculas de adhesión y citocinas pro-inflamatorias, tales como IL-6, IL-8 o el factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ) y modifica los parámetros inflamatorios en suero. Por lo tanto, la melatonina tiene la capacidad para mejorar el curso clínico de enfermedades con una etiología inflamatoria (25).

Por último, diversos estudios han demostrado que la melatonina es capaz de actuar también sobre la neurogénesis hipocampal, al inducir la proliferación de stem cells neuronales mediante la fosforilación de las quinasas ERK1/2 y c-Raf mediante su unión a sus receptores de membrana (MT1/MT2) (47).

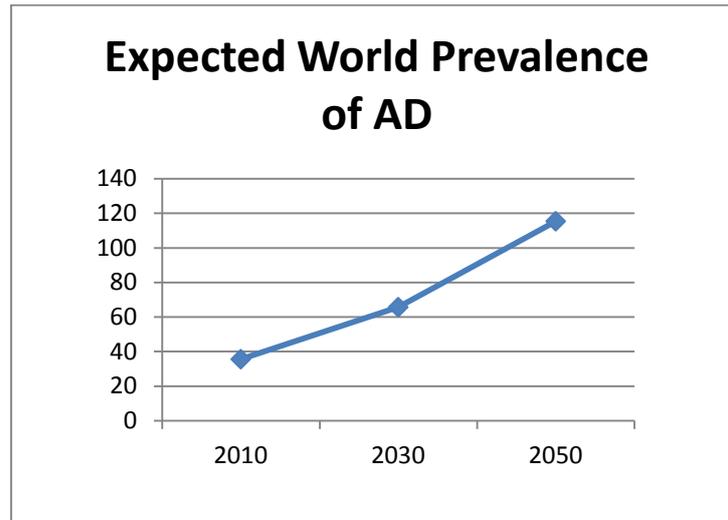
## 7. PAPEL DE LA MELATONINA EN LAS ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

A pesar de que la etiología de las enfermedades neurodegenerativas es multifactorial y no se conoce con exactitud, se cree que el estrés oxidativo desempeña un papel crucial en el desarrollo de la mayoría de los trastornos neurológicos, en especial de aquellos relacionados con la edad. En las últimas décadas, muchos grupos de investigación han centrado su atención en las múltiples acciones neuroprotectoras de la melatonina (48–50) sobre ciertas enfermedades neurodegenerativas del SN, tanto aquellas que afectan al SNC como al SNP. Todo este tipo de entidades clínico-patológicas que afectan al SN poseen una menor capacidad para mantener un equilibrio adecuado entre la formación de radicales libres y la activación de mecanismos antioxidantes (51).

El SN es particularmente sensible al daño oxidativo. Esta susceptibilidad depende de ciertas características bioquímicas y fisiológicas propias del cerebro: su alta actividad metabólica (el cerebro es un órgano que usa una cantidad desproporcionadamente alta de oxígeno, aproximadamente el 20% del total inhalado) (52), la presencia de pocos eliminadores endógenos de ROS, una amplia red axonal y dendrítica, así como un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados usados como sustrato para la formación de ROS. Además, la presencia en el SN de grandes cantidades de metales (p.ej. hierro), catalizadores de múltiples reacciones metabólicas, contribuye a la formación de radicales hidroxilo reactivos que inducen secundariamente la peroxidación de lípidos y la oxidación de proteínas (53,54). En este contexto, se han encontrado niveles anormalmente altos de hierro en cerebros de personas con EA y en las enfermedades neurodegenerativas caracterizadas por la degeneración de la sustancia negra, siendo la más importante la EP (55).

### 7.1 ENFERMEDAD DE ALZHEIMER (EA)

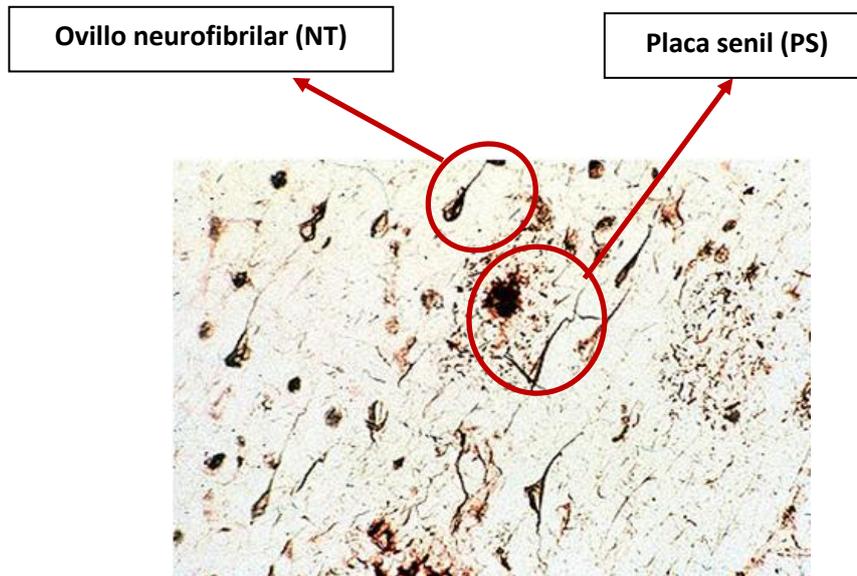
La EA es una enfermedad neurodegenerativa progresiva de etiología desconocida que afecta alrededor de 35 millones de personas en todo el mundo (56). Se estima que en 2030 el número de afectados se incrementará hasta 65'7 millones y en 2050 hasta 115'4 millones (Figura 2), como consecuencia de una población cada vez más longeva en los países industrializados y por la falta de tratamientos efectivos. Se considera la principal causa de demencia en personas mayores (57), en especial en mayores de 70 años (58).



**Figura 2.** Gráfico que representa la prevalencia de EA esperada en el futuro (World Alzheimer Report 2010. THE GLOBAL ECONOMIC IMPACT OF DEMENTIA, <http://www.alz.org>)

En la EA se producen ciertos eventos neuropatológicos y neuroquímicos característicos (entre los cuales se incluyen procesos neuroinflamatorios, activación del sistema inmune, estrés oxidativo y nitrosativo, etc.) (59) que conducen a la pérdida irreversible de neuronas, especialmente neuronas colinérgicas basales del lóbulo frontal. Debido a que es una enfermedad que destruye circuitos neuronales, su clínica se caracteriza por el deterioro progresivo de la memoria, el juicio, la capacidad para tomar decisiones, la orientación en espacio-tiempo-persona y el lenguaje.

Los fenómenos histopatológicos que con más frecuencia se asocian a EA, sin llegar a ser éstos hallazgos patognomónicos, son la formación de **placas seniles (PS)** por acúmulo extracelular de péptidos beta-amiloide ( $A\beta$ ) solubles en la pared de los vasos que forman la circulación sanguínea cerebral y de **ovillos neurofibrilares (NFT)**, que no son más que el resultado de la formación de agregados de microtúbulos por hiperfosforilación de la proteína tau (encargada, en condiciones normales, de estabilizar el citoesqueleto de las células) (60,61) (Figura 3).



**Figura 3.** Corte de corteza cerebral de un modelo de rata con EA (<http://www.rnw.nl/health/html/brain.html>)

Otros hallazgos neuropatológicos que con frecuencia también se observan en pacientes con EA son la disminución de los niveles de melatonina, tanto en suero como en LCR, y la pérdida de su ritmo diurno de secreción (62–67). Tales hallazgos están íntimamente correlacionados con el estadio de Braak (Figura 4) en el cual se encuentre la enfermedad. Desde 1991, y de la mano del neuropatólogo alemán Braak y su equipo, se decidió clasificar a la EA en 6 estadios diferentes según su progresión clínico-patológica. Así por ejemplo, se ha visto que cuanto más avanzado es el estadio de Braak (V-VI) menor será la concentración de melatonina en LCR (67).



**Figura 4.** Estadios de Braak (68)

Estudios postmortem han mostrado que los niveles de melatonina se encuentran ya reducidos, tanto en el LCR como en la glándula pineal, en pacientes con EA preclínica (pacientes sin alteración cognitiva que solo muestran acúmulo extracelular de A $\beta$  en SNC, visto mediante técnicas de imagen) (63–67). Aunque la glándula pineal de los pacientes

con EA presenta cambios moleculares, no se han observado cambios en el peso, el contenido total de proteínas ni calcificaciones de la glándula (63,69). Sin embargo, existe una fuerte correlación entre el contenido pineal y el nivel de melatonina en LCR (63), y entre los niveles de melatonina en LCR y en plasma (62); lo que sugiere que un nivel reducido de melatonina en LCR podría utilizarse como marcador precoz de EA en un futuro.

Otros hallazgos patológicos presentes en la EA son las alteraciones en la inmunorreactividad de los receptores de la melatonina; en concreto, se ha visto que en el hipocampo de pacientes con EA, el MT2 disminuye su inmunorreactividad para la melatonina mientras que el MT1 la aumenta (70,71). También se ha demostrado que el ARNm que codifica para el receptor  $\beta$ 1-adrenérgico desaparece, y que la expresión genética y la actividad de la monoaminoxidasa (MAO) aumenta en pacientes con EA, sugiriendo que la desregulación de las inervaciones noradrenérgicas y la disminución de la serotonina (precursor de la melatonina) podrían ser las responsables de la pérdida del ritmo diurno de secreción de la melatonina y de los niveles tan reducidos de esta hormona en EA (72). Por último, la suplementación con melatonina exógena en pacientes con EA ha sido sugerida para mejorar la memoria y la ritmicidad circadiana de estas personas, así como para reducir el comportamiento agitado y los estados confusionales que con frecuencia presentan los que padecen esta enfermedad (73–77). Por tanto, dada su baja toxicidad (78–80), la suplementación con melatonina puede ser una de las posibles estrategias terapéuticas para el tratamiento sintomático de la EA.

Todos estos fenómenos neuropatológicos de los que hemos hablado hasta ahora son la base etiopatogénica de la EA y los que han permitido postular las diferentes hipótesis causales de las que hablaremos a continuación.

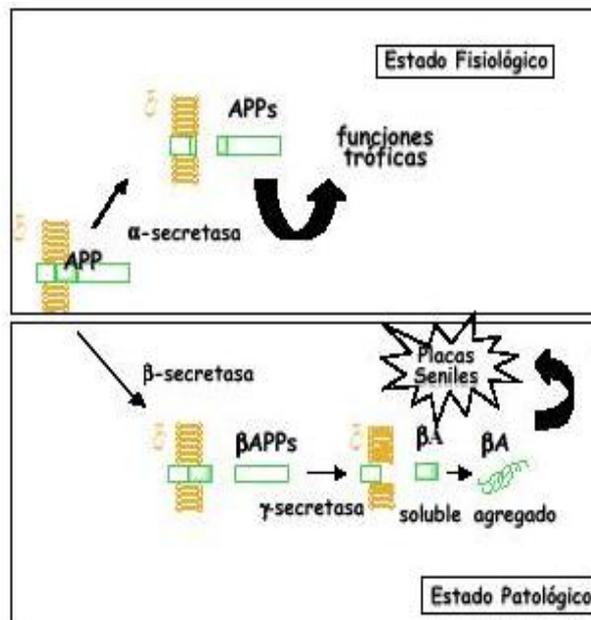
La hipótesis etiopatogénica más extendida es la que señala a la toxicidad producida por  $A\beta$  como el principal agente causal de la EA. Se cree que el depósito extracelular de esta molécula en el SNC se encuentra directamente relacionado con el desarrollo de los diferentes procesos neurodegenerativos que tienen lugar en la EA, al hacer que las neuronas sean más vulnerables al daño oxidativo y por el deterioro del metabolismo energético celular (ambos eventos relacionados con el envejecimiento) (81). Otra teoría que también ha cobrado fuerza en la EA es la que habla de la hiperfosforilación de Tau. Como ya hemos mencionado más arriba, cuando tau se hiperfosforila forma agregados en forma de NFT, lo cual provoca a su vez una importante disrupción en la arquitectura del citoesqueleto (82,83). El alcance de la patología neurofibrilar y, en particular, el número de NFT corticales se correlaciona con la severidad de la demencia, de forma que a más NFT más severa será la demencia que presenta el paciente (84,85).

Se habla también de que pudiera existir una cierta predisposición genética a padecer la enfermedad (p.ej. distintas formas de expresión y subtipos de presenilinas y apolipoproteínas) (86–90). Si bien es verdad que en familias donde hay un miembro afectado con esta enfermedad la incidencia en generaciones posteriores es más elevada, no se ha demostrado que dicho aumento pueda ser explicado únicamente por la genética, ya que puede que estén influyendo muchos otros factores relacionados con el ambiente (76–80). Por lo que éste es un campo aun por explorar que necesita de más trabajos de investigación.

A continuación hablaremos del rol de la melatonina sobre la toxicidad producida por  $A\beta$  y la hiperfosforilación de tau. También hablaremos sobre la llamada teoría colinérgica y la de la neuroinflamación, que intervienen en la patogénesis de la EA y del papel neuroprotector que ejerce la melatonina sobre estos eventos.

### 7.1.1. El papel de la melatonina sobre la toxicidad por $\beta$ -Amiloide ( $A\beta$ )

El beta-amiloide 1-42 ( $A\beta$  1-42) es un fragmento derivado de la escisión de la proteína precursora de amiloide (APP) por acción de las proteinasas. El  $A\beta$  juega un papel importante en la etiopatogenia de la EA al promover la degeneración neuronal (Figura 5). Aunque el mecanismo subyacente a la neurotoxicidad por  $A\beta$  está aún por dilucidar, cada vez hay más pruebas de que dicha molécula induce disfunción mitocondrial, desencadena la apoptosis celular y aumenta los niveles intracelulares de calcio y ROS en el cerebro de pacientes con EA, lo que conduce a una serie de eventos que destruyen las neuronas directamente afectadas e incluso las adyacentes a éstas (91,92).



**Figura 5. Esquema de las vías amiloidogénica y no amiloidogénica de la APP.** Las placas seniles son estructuras esféricas localizadas en el espacio extracelular que desplazan a las terminaciones nerviosas. Se trata de conglomerados anulares de cuerpos y prolongaciones neuronales degeneradas en torno a un depósito central de un péptido de longitud variable (de 40 o 42 amino ácidos) llamado  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ). El  $A\beta$  depende de la ruptura enzimática de la proteína precursora de amiloide (APP). Tres enzimas son responsables de este proceso de ruptura. La APP puede fragmentarse por acción de la  $\alpha$ -secretasa, seguida de la acción de la  $\gamma$ -secretasa, de manera que se generan fragmentos solubles de APP. Sin embargo, cuando sobre la APP actúa en primer lugar la  $\beta$ -secretasa seguida de la acción de la  $\gamma$ -secretasa se liberan los fragmentos de  $A\beta$  (1-40) y  $A\beta$  (1-42), poniéndose en marcha la ruta amiloidogénica. (<http://www.aecientificos.es/empresas/aecientificos/intereshtml/alzheimer/alzheimer.htm>)

La APP puede ser escindida por dos enzimas diferentes, la  $\alpha$ -secretasa o la  $\beta$ -secretasa, y en función de cuál de las dos actúe, se pondrá en marcha el proceso de la amiloidogénesis

o no (93) (Figura 5). La vía no amiloidogénica se encuentra mediada por la acción de la  $\alpha$ -secretasa, que escinde a la APP en residuos aminoácidos no incluidos dentro de la propia secuencia del A $\beta$ . Por el contrario, la vía amiloidogénica se activa por la acción de la  $\beta$ -secretasa y da lugar a la formación del péptido A $\beta$ . Para ello se necesita que intervenga tanto la  $\beta$ -secretasa como la  $\gamma$ -secretasa, enzimas encargadas de la escisión de los terminales (C- y -N) que acotan la secuencia de aminoácidos que componen el péptido A $\beta$  (94). Conocer el mecanismo de cómo se forma el A $\beta$  a partir de la APP es importante, porque se ha visto que la melatonina es capaz de inhibir la secreción de la APP soluble (sAPP) en diferentes líneas celulares al interferir con la maduración de la propia APP (95). Adicionalmente, la administración de melatonina exógena reduce de manera efectiva la producción de A $\beta$  y su posterior depósito en las neuronas, tanto en modelos experimentales in vivo (96,97) como in vitro (95,98–100).

Sin embargo, en un estudio realizado in vivo en el año 2003 en un modelo transgénico de ratón para EA de 14 meses de edad (el Tg2576), se vio que la administración exógena de melatonina no afectaba a la expresión de la APP (96) y tampoco lograba eliminar las placas de amiloide pre-existentes ni evitar la deposición adicional de A $\beta$ , a pesar de haberse alcanzado altas concentraciones plasmáticas de melatonina (101). Este resultado difiere del obtenido en ratones normales (97), donde se vio una disminución en los niveles de A $\beta$  y una reducción en la nitración de proteínas tras el tratamiento con melatonina. Sin embargo, ambos estudios coinciden en que existe poca evidencia en cuanto a las acciones beneficiosas antioxidantes de la melatonina en ratones más mayores. Por tanto, quizás la diferencia en cuanto a la edad de inicio del tratamiento podría explicar el porqué de los resultados obtenidos en ambos estudios (96) (101). Estos hallazgos indican que la melatonina tiene la capacidad de regular el metabolismo de la APP y de prevenir los fenómenos neuropatológicos por depósito de A $\beta$ , pero no de lograr verdaderos efectos anti-amiloideos o antioxidantes cuando la terapia se inicia después de que se haya producido ya el depósito de A $\beta$  en el SNC.

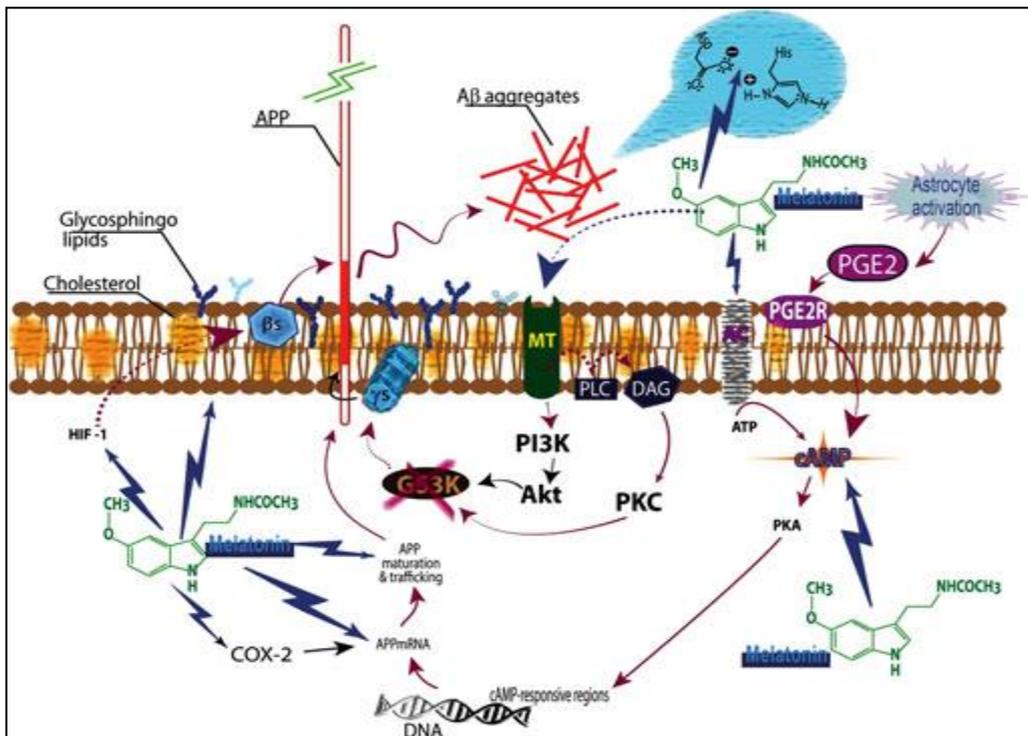
Como ya se ha mencionado más arriba, la escisión proteolítica de la APP por la  $\alpha$ -secretasa pone en marcha una vía no productora de A $\beta$ . Dicha vía está regulada por muchos estímulos, tanto fisiológicos como patológicos, siendo los PKC-dependientes los más conocidos (85). Se desconoce el mecanismo exacto por el cual la activación de la PKC aumenta la secreción de la APP, pero es posible que la activación de la PKC dé lugar a la activación de otras quinasas que aumenten la secreción de APP y que además estimulen a la  $\alpha$ -secretasa. Ejemplo de ello son los agonistas de los receptores de glutamato metabotrópicos y los ésteres de forbol, que comparten la capacidad de estimular la secreción de APP e inhibir la formación de A $\beta$  mediante la activación de la PKC (94). Lo realmente importante e interesante para este trabajo es que la melatonina puede actuar como agonista de estos receptores (Figura 6). Por lo tanto, aunque de una forma indirecta, la melatonina sí posee propiedades anti-amiloideas.

Recientemente se ha visto que la inhibición de la glucógeno sintasa quinasa 3 (GSK-3) inhibe también la formación de A $\beta$  (102–104), aunque el mecanismo por el cual lo hace aún no está del todo claro. Se sabe de la GSK-3 que se inactiva cuando es fosforilada en residuos de serina y que existen ciertos estímulos capaces de activarla, al conseguir defosforilarla o fosforilarla en residuos de treonina (105). En este contexto, varias líneas de investigación han demostrado que la GSK-3 es capaz de interactuar con la presenilina-

1 (PS1), cofactor de la  $\gamma$ -secretasa; por tanto, la activación de la GSK-3 estimula a su vez la formación de A $\beta$  (106,107).

A la vista de lo expuesto, tanto la PKC como la GSK-3 parecen poner en marcha diversas vías enzimáticas encargadas de procesar a la APP y sobre las cuales actúa la melatonina, inhibiendo la fosforilación de la GSK-3 en residuos de serina (108) o activando la PKC y la Akt (Figura 6), con la consiguiente disminución en la formación y depósito de A $\beta$ .

Por otra parte, en un afán de buscar nuevas dianas terapéuticas que permitan detener o simplemente frenar el curso de la EA, se ha visto mediante diferentes técnicas de imagen que la melatonina puede interactuar con A $\beta$ -40 y A $\beta$ -42 e inhibir la formación de láminas  $\beta$  y/o fibrillas de A $\beta$  (figura 6) (109–111). También mediante estas técnicas se ha demostrado que la interacción entre la melatonina y el A $\beta$  depende de las características estructurales de dicha indolamina y no de sus propiedades antioxidantes, pues sus efectos no pudieron ser reproducidos por sus análogos ni por otros eliminadores de radicales libres (109,112).



**Figura 6.** La melatonina evita la formación de agregados de A $\beta$  neurotóxicos mediante varias rutas. Afecta directamente a la estabilidad de las láminas- $\beta$  de amiloide mediante la interrupción de puentes de sal con las cadenas laterales de Aspartato e Histidina del A $\beta$  o impidiendo la síntesis y maduración de la APP a través de la supresión de la actividad del AMPc (regiones del gen promotor de la APP son sensibles a AMPc). Del mismo modo, también las acciones indirectas de la melatonina son significativas, así la melatonina puede reducir la actividad de la GSK3 (enzima necesaria para el procesamiento amiloidogénico de la APP) mediante la activación de PKC o la inducción de Akt. Tanto PKC como Akt pueden desactivar a GSK-3 a través de su fosforilación. COX-2, relacionada con la síntesis de APP en los astrocitos, es controlada por la melatonina y sus metabolitos. Por último, la melatonina tiene un papel clave en la disposición del colesterol y los ácidos grasos en las membranas biológicas. Esto es importante porque, como se ilustra, el procesamiento de APP amiloidogénico parece ser favorecido por colesterol/balsas de lípidos enriquecidas con esfingomielina.

*APP, proteína precursora de amiloide;  $\beta$ s,  $\beta$ -secretasa;  $\gamma$ s,  $\gamma$ -secretasa; A $\beta$ , amiloide; MT, receptores de melatonina; PLC, fosfolipasa C; DAG, diacil-glicerol; PKC, proteína quinasa C; PI3K, fosfatidilinositol-3-quinasa; Akt, proteína quinasa serina/ treonina; PKA, quinasa dependiente de AMPc. (113)*

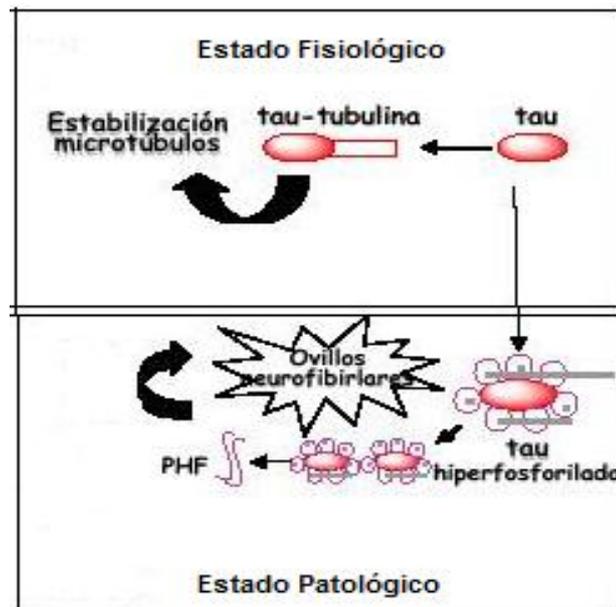
Los depósitos de A $\beta$  en el cerebro dan lugar a un amplio espectro de efectos nocivos para las neuronas relacionados con el estrés oxidativo, que tienen como fin último provocar un daño celular generalizado e irreversible que culmine con la muerte celular (114). Por otro lado, varias corrientes de pensamiento creen que el estrés oxidativo, a su vez, pudiera estar estimulando la formación de A $\beta$ . Se ha planteado la siguiente hipótesis al respecto: se piensa que el propio daño oxidativo es capaz de poner en marcha un círculo vicioso en el cual el estrés oxidativo activa la vía amiloidogénica, aumentando así la producción de A $\beta$  a partir de APP y, en consecuencia, aumentando aún más la síntesis intracelular de radicales libres por parte de las mitocondrias. Estas organelas son, no solo el principal lugar de síntesis de ROS, sino también el principal objetivo de ataque de éstos. La melatonina mediante su unión física a la membrana mitocondrial, es capaz de estabilizar la fluidez de la membrana interna incluso cuando ésta ha sido atacada por ROS (115). En diferentes estudios con modelos transgénicos de ratón para EA, se vio como la administración de melatonina evita la aparición de señales de apoptosis (p.ej. Bax, NF-KB o la caspasa-3) secundarias a daño celular por depósito tisular de amiloide (116–119) y como reduce la formación intracelular de ROS debida a la presencia de A $\beta$  en el entorno (120). Por tanto, en conjunto, las evidencias sugieren que la melatonina podría llegar a convertirse en un tratamiento eficaz de la EA por sus propiedades antiapoptóticas y antioxidantes.

Todas estas propiedades de las que hablamos han sido probadas en múltiples estudios, tanto in vitro (121,122) como in vivo (96,123–125). Por ejemplo, en dichos estudios se vio que aquellas células a las que se les había inyectado A $\beta$ , bien fuese in vitro o directamente en modelos animales de experimentación, y que posteriormente fueron tratadas con melatonina, sufrieron menos eventos oxidativos que aquellas a las que no se les administró melatonina. Por otra parte, también se quiso comprobar si el efecto de la melatonina es el mismo en células a las que previamente se les había inyectado APP (en lugar de A $\beta$ ) y en modelos transgénicos de ratón para EA. Curiosamente, bajo estas condiciones, se vio que la melatonina no solo mantenía su efecto antioxidante, sino que también presenta propiedades anti-amiloidogénicas al inhibir tanto la formación de A $\beta$  como la agregación de éste en láminas- $\beta$  y/o en fibrillas de amiloide. (126). Por lo tanto, la melatonina puede inhibir la formación y el depósito de A $\beta$  y secundariamente reducir la muerte neuronal de forma más eficaz que otros antioxidantes (127), pero el mecanismo por el cual actúa es aún desconocido y necesita ser investigado.

### **7.1.2 El papel de la Melatonina en la hiperfosforilación de TAU**

La proteína Tau participa en el ensamblaje y estabilización de los microtúbulos, así como en la formación y mantenimiento de la estructura axonal (128). La hiperfosforilación de Tau reduce la capacidad de dicha proteína para estabilizar los microtúbulos, dando lugar a una importante alteración en el citoesqueleto de las neuronas afectadas y, en

consecuencia, en el transporte de moléculas a través de éste (129). Dichas alteraciones en el transporte se deben a que el citoesqueleto se ensambla de manera anormal formando NFT, cuyo acúmulo produce alteraciones en la neurotransmisión (figura 7). El número de NFTs presentes en cerebros de pacientes con EA se corresponde con el grado de déficit cognitivo(85,130).



**Figura 7.** Los NFT están formados por filamentos pareados helicoidales (PHFs): estructuras anómala cuya presencia provoca serios trastornos en la actividad de las neuronas, que pierden su capacidad de transmitir mensajes nerviosos, iniciándose así el proceso neurodegenerativo. Se sabe que las neuronas que contienen NFT pierden su capacidad funcional, lo cual las lleva a activar vías apoptóticas. En estudios postmortem de cerebros de pacientes con EA se ha aislado un número considerable de NFT (<http://www.aecientificos.es/empresas/aecientificos/intereshtml/alzheimer/alzheimer.htm>).

La tau hiperfosforilada ha sido identificada en más de una docena de desórdenes neurodegenerativos denominados taupatías, entre los que se incluyen: la EA, la enfermedad de Niemann-Pick tipo C y otras (131–133). De entre todos estos desórdenes, la EA es la taupatía más común y mejor estudiada.

En cerebros con EA, el nivel de tau hiperfosforilada es entre 3 a 4 veces superior al encontrado en cerebros de adultos normales (134,135). La hiperfosforilación de tau se debe a un desequilibrio entre quinasas y fosfatasas. Existen 79 residuos serina-treonina en la secuencia de tau con capacidad para fosforilarse, de los cuales se han aislado fosforilados hasta un total de 30 en la EA (136–141). Niveles altos de tau hiperfosforilada son la base patogénica de la EA.

La inhibición de la hiperfosforilación de tau es uno de los objetivos terapéuticos en la EA. Tras el estudio sistematizado de los múltiples efectos de la melatonina, se ha visto que ésta es capaz de reducir significativamente la hiperfosforilación de tau inducida por wortmannin (potente inhibidor de la Pik3) (142), isoproterenol (agonista  $\beta$ -adrenérgico) (143,144), Caliculina A (145) y la luz constante (80) en ratas. Intentando dilucidar los

mecanismos mediante los cuales la melatonina inhibe la hiperfosforilación de tau, se vio que influía en la actividad de múltiples proteínas quinasas y fosfatasa. Y es que el tratamiento con melatonina no solo inhibía a la GSK-3 (inducida por wortmannin), a la proteína quinasa A (PKA) (inducida por isoproterenol) y a la fosfatasa inducida por CA, sino que también reducía el estrés oxidativo inducido por estas quinasas (142,146,147). Y así lo demuestran, por ejemplo, los resultados obtenidos en un estudio realizado en el año 2013, en el cual se pone de manifiesto el potente efecto inhibitor de la melatonina sobre la hiperfosforilación de tau (85). En uno de los experimentos llevados a cabo durante este estudio, se inhibió la biosíntesis de melatonina en ratas mediante la inyección intracraneal de haloperidol, inhibidor de la 5-hidroxitriptamina-O-metiltransferasa (enzima clave en la síntesis de melatonina). Dicha inhibición no solo conducía al deterioro de la memoria espacial, sino que también inducía un aumento en la hiperfosforilación de tau. La inyección de melatonina durante la semana previa a la realización del experimento así como durante el periodo de administración de haloperidol, mejoró de forma significativa los déficits de memoria en cuanto a retención de datos y detuvo la hiperfosforilación de tau y otros fenómenos causados por estrés oxidativo. Durante otro experimento del mismo, se sometió a las ratas a iluminación constante para interrumpir el metabolismo de la melatonina. Los resultados obtenidos fueron: reducción de los niveles de melatonina en suero, desarrollo de déficits de memoria espacial, hiperfosforilación de tau en múltiples puntos, activación de GSK-3 y PKA y supresión de fosfoproteína fosfatasa (PP-1). El daño oxidativo y las múltiples lesiones en organelas celulares [p.ej. reducción en el número de vesículas del retículo endoplásmico (RE), tanto liso (REL) como rugoso (RER)] son otras de las muchas alteraciones que se produjeron en ratas expuestas constantemente a la luz, lo cual dio lugar a la formación de sinapsis más delgadas y a un aumento en la actividad de la SOD y la monoamino oxidasa (MAO). La suplementación simultánea con melatonina detuvo parcialmente las alteraciones a nivel molecular y el deterioro del comportamiento (85). Aunque no está claro si la concentración disminuida de melatonina es un factor causante de EA o simplemente una consecuencia de la propia enfermedad, los resultados tanto del citado estudio como de muchos otros (17,113,148) relacionan la disminución de los niveles de melatonina con el deterioro de la memoria espacial y la hiperfosforilación de tau en Alzheimer.

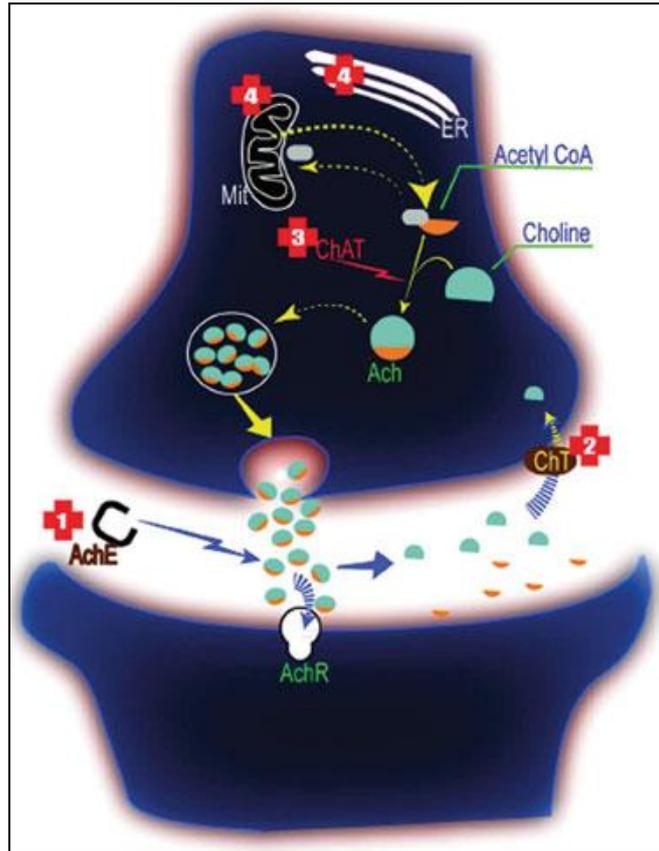
### **7.1.2 El papel de la Melatonina sobre el sistema colinérgico**

Las alteraciones en el funcionamiento del sistema colinérgico son también un evento temprano y primario en la patogénesis de la EA (149). Las neuronas del núcleo basal de Meynert (grupo de neuronas ricas en acetilcolina (ACh) y colinacetiltransferasa (ChAT) en cara basal del cerebro con largas proyecciones hasta el córtex y el hipocampo) sufren una profunda y selectiva degeneración en el cerebro de personas con EA (150–152). Los niveles de ACh se encuentran ya reducidos en etapas tempranas de la EA, mientras que la ChAT (enzima para la síntesis de ACh) y la acetilcolinesterasa (enzima de hidrólisis de la ACh) no sufren cambios en sus respectivas actividades hasta etapas muy avanzadas de la enfermedad (153–155). Otro dato interesante hallado al examinar múltiples muestras de tejido nervioso obtenidas tanto por biopsia como por necropsia, ha sido la dramática reducción en la actividad de la ChAT en el córtex de pacientes con EA. Dicha reducción es

directamente proporcional al grado de severidad de la demencia (156). Aunque el mecanismo concreto que conduce al déficit de ACh es aún desconocido, se han usado inhibidores de la acetilcolinesterasa (AChE) para corregirlo y parecen haber demostrado eficacia, de ahí que éstos sean usados como tratamiento de la enfermedad en casos leves-moderados (157).

La melatonina evita que se produzcan las típicas alteraciones que tienen lugar en el sistema colinérgico de pacientes con EA (85). Muestra de ello es un estudio que ha demostrado que la administración de esta indolamina impide parcialmente la inhibición de la ChAT y del transporte de colina (fenómenos inducidos por la presencia de agentes oxidantes) (158) (Figura 8). Así mismo, en otro estudio (123) se vio que el tratamiento durante cuatro meses con melatonina mejoraba significativamente fenómenos neuropatológicos, cambios bioquímicos y alteraciones del comportamiento en ratones transgénicos con EA de ocho meses de edad, que previa terapia con melatonina presentaban grandes depósitos de A $\beta$  en SNC, déficits importantes de memoria y para el aprendizaje, así como una reducción severa de la actividad de la ChAT en el córtex frontal y en el hipocampo. También se ha demostrado que el tratamiento con melatonina mejora el déficit de memoria espacial y evita disminuciones en la actividad de la ChAT en ratas adultas ovariectomizadas (159). Sin embargo, en otro estudio con ratas a las que se les inyectó A $\beta$  en los ventrículos cerebrales durante 14 días se vio que la actividad de la ChAT se reducía significativamente y que la melatonina era incapaz de restaurar la actividad previa de dicha enzima (160). La melatonina demostró eficacia únicamente inhibiendo a la AChE, inducida por lipopolisacáridos (LPS) en dicho experimento. Estos resultados corroboran la influencia de la melatonina como inhibidor de la AChE en demencia (161).

Sin embargo, hasta la fecha, no hay evidencias clínicas de que con el uso de melatonina como tratamiento para la EA se obtengan mejores resultados terapéuticos que con los inhibidores de la AChE; si bien es verdad que la combinación de ambos fármacos podría tener efectos mucho más beneficiosos al actuar sinérgicamente. En este contexto, recientemente se ha diseñado y sintetizado un compuesto híbrido de tacrina-melatonina, con el fin de ser utilizado como fármaco multifunción en la EA (162,163). Estos compuestos cuentan con propiedades colinérgicas y antioxidantes mejoradas, siendo por un lado inhibidores más potentes de la AChE humana y, por otro, eliminando radicales libres más eficientemente que si solo se administrase melatonina. Cuentan con muy baja toxicidad y son capaces de atravesar la BHE y penetrar en el SNC (162). La administración intracraneal de uno de estos híbridos (*N*-(2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl)-7-(1,2,3,4-tetrahydroacridin-9-ylamino) heptanamide) redujo la muerte celular y el depósito de amiloide inducido por A $\beta$  en el parénquima cerebral de un modelo concreto de ratón para EA (ratones APP/PS1). Es más, la reducción de la toxicidad por A $\beta$  se acompañó de una mejoría evidente en la función cognitiva (163).

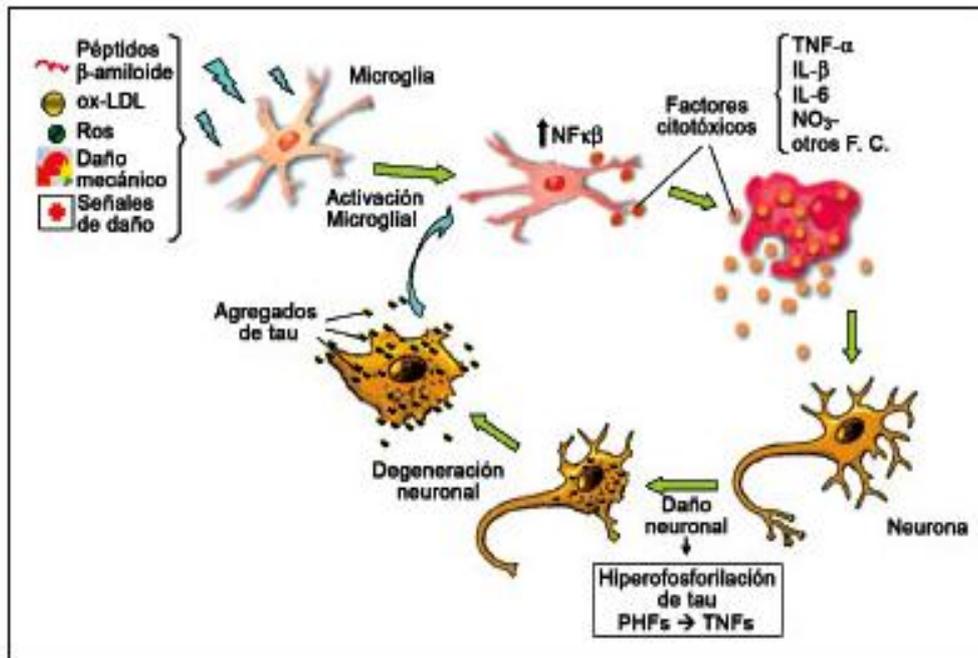


**Figura 8.** La melatonina puede actuar como promotor de la acetilcolina al bloquear la liberación de  $Ca^{2+}$  - dependiente de la AChE (cruz roja # 1) o permitir que la colina que está en la hendidura sináptica sea captada de nuevo por el terminal presináptico (cruz roja # 2), evitando la oxidación del QT. Es posible que la melatonina restaure la actividad de la ChAT en condiciones de estrés oxidativo (cruz roja# 3), como se observa en ratones transgénicos APP. Sin embargo, está aún por determinar el papel de la melatonina sobre las alteraciones en los niveles de calcio intracelular, consecuencia del estrés oxidativo crónico celular. Esto es importante porque los niveles de calcio intracelulares son determinantes para la expresión de acetilcolina y su metabolismo, así como para la actividad del receptor de Ach (cruz roja # 4).

Mit, mitocondrias; ER, retículo endoplasmático; Chat, acetilcolina transferasa; Ach, acetilcolina; QT, transportador de colina; Ache, Acetilcolinesterasa; AchR, receptor de acetilcolina (113).

### 7.1.3 El papel de la Melatonina en la neuroinflamación

Otro evento que con frecuencia ocurre en la EA es la sobrestimulación de las células de la microglia, con la consecuente sobreexpresión de citocinas proinflamatorias (164–166). El depósito extracelular de  $A\beta$  en PS y su agregación en forma de oligómeros, son alteraciones que producen fenómenos inflamatorios y excitotoxicidad, causando neurodegeneración y, en consecuencia, deterioro cognitivo (167) (Figura 9). Este ambiente pro-inflamatorio inducido por  $A\beta$  influye sobre las estructuras del SNC, por ejemplo activando a la microglia como ya hemos mencionado (168).



**Figura 9.** Esquema de la activación de las células de la microglia, secundaria a señales de daño celular mantenidas en el tiempo que dan lugar a la liberación de citoquinas proinflamatoria, causantes a su vez de más daño celular. Dichos nuevos eventos de daño celular estimulan otra vez a las células de la microglia, perpetuándose así un círculo vicioso de daño y neurodegeneración (169).

Varios estudios epidemiológicos han demostrado que el uso de fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) reduce la incidencia de la EA (170). También se ha visto que la melatonina atenúa la activación de los astrocitos y otras células de la microglia (171), y que reduce significativamente la respuesta proinflamatoria, al disminuir en aproximadamente un 50% los niveles de citoquinas proinflamatorias (IL1-β, IL6 y TNF-α) inducidas por Aβ en experimentos in vivo (125). Además, su administración exógena en ratas reduce alteraciones del aprendizaje y la memoria inducidas por Aβ, así como aquellas células de la microglia que, inducidas por NF-kB, expresan IL-1β y factores del complemento (p.ej. C1q) (172).

#### 7.1.4 Papel futuro de la Melatonina en la EA

En la actualidad sigue sin existir una cura para la EA, si bien es verdad que disponemos de una amplia batería de fármacos que mejoran, al menos parcialmente, muchos de los síntomas provocados por esta enfermedad.

Un reciente metanálisis muestra los resultados funcionales obtenidos tras el uso de inhibidores de la AChE y de la memantina (antagonista de los receptores NMDA de glutamato) en la EA y concluye que dichos fármacos mostraron efectos modestos tras ser utilizados como único tratamiento de la enfermedad (173,174). Por otra parte, los agentes antiinflamatorios pueden reducir el riesgo de desarrollar EA (175) pero, según los resultados obtenidos en un estudio de cohortes realizado en comunidades de edad

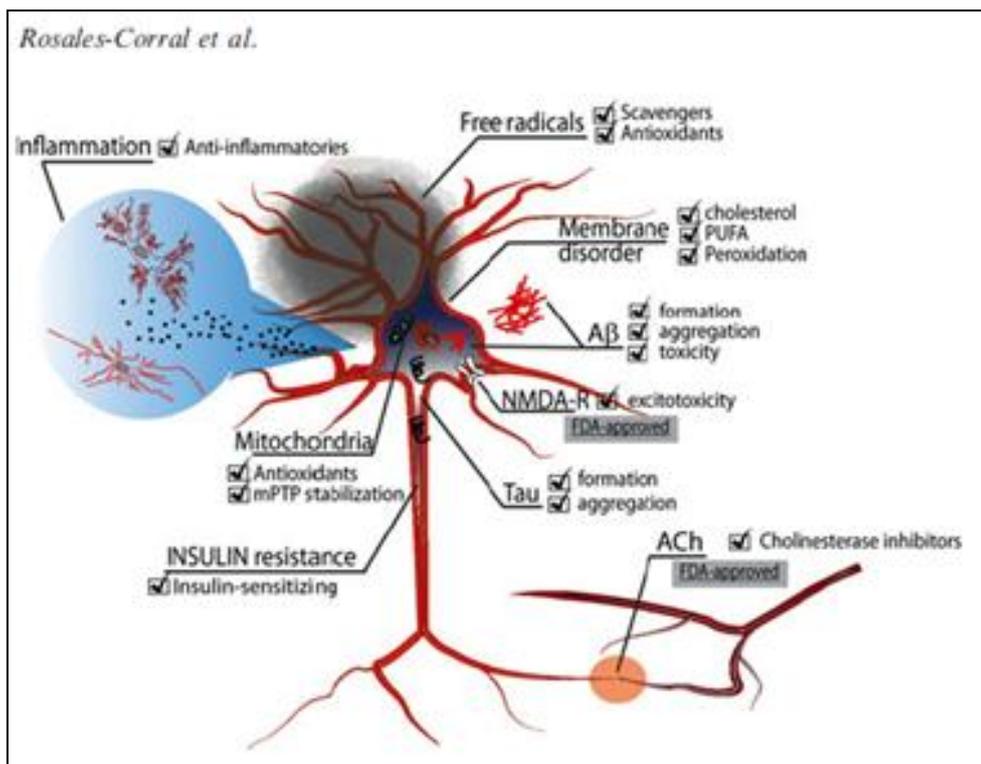
avanzada, los antiinflamatorios podrían ser incluso perjudiciales para mantener las habilidades cognitivas en personas mayores, grupo poblacional con mayor riesgo de deterioro cognitivo (176). La vitamina E, los estrógenos y los ácidos grasos omega-3 han sido testados también en diferentes estudios, arrojando resultados contradictorios (85). Lo cierto es que existe una larga lista de terapias experimentales que tienen como objetivo actuar sobre los diferentes protagonistas implicados en la patogénesis de la EA: la proteína tau, los depósitos de A $\beta$  en forma de PS, los receptores de A $\beta$ , los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), los receptores de serotonina, la pérdida de neuronas productoras de ACh, el colesterol, etc. (Figura 10).

En este contexto de atacar a las principales vías etiopatogénicas, se ha propuesto a la melatonina como posible opción terapéutica de la EA. Algunos de los motivos que han llevado a considerarla como tal son, por ejemplo, ciertos aspectos moleculares y fisiopatológicos que dicha indolamina posee. Se ha visto que su aplicación temprana y a largo plazo ralentiza el desarrollo de la EA. Sin embargo, tal y como se ha descrito anteriormente, la melatonina carece de estos efectos antioxidantes y anti-amiloideos cuando el tratamiento se inicia a edades avanzadas, cuando ya se ha producido el depósito de A $\beta$ . Por lo tanto, será necesario la realización de más estudios con modelos transgénicos murinos y extensos ensayos clínicos para confirmar el verdadero rol de la melatonina en estadios patológicos tardíos de la EA. De tal forma que si finalmente se confirma que la melatonina no tiene efecto alguno en estas etapas tardías de la EA, las futuras líneas de investigación deberían centrarse en el papel de la melatonina como tratamiento preventivo de la EA.

Por otro lado, existen claras evidencias de que la melatonina podría tener un papel relevante en el tratamiento de la EA como adyuvante de otras terapias (177–182). Sin embargo, también hay un estudio que dice que la melatonina no tiene ningún efecto sobre la EA (183) y otro que asegura que la melatonina podría incluso tener efectos perjudiciales sobre la EA, agravando el trastorno neurodegenerativo (184).

Sin embargo, aunque no frenando la progresión neurodegenerativa de la EA, la melatonina ha demostrado eficacia sobre diversos síntomas que con frecuencia se asocian a esta enfermedad y que condicionan la vida de quien los padece. En este contexto, se ha visto que la melatonina mejora las alteraciones del ritmo circadiano, el insomnio y ciertos aspectos asociados al deterioro de la función cognitiva, desórdenes éstos que a su vez se deben a la disminución de los niveles de melatonina en la EA. Así por ejemplo, la administración exógena de melatonina ha demostrado ser eficaz en el tratamiento del llamado “*síndrome vespertino*” o “*sundowning*” (periodos de mayor confusión, ansiedad y agitación al caer la tarde que pueden extenderse hasta la noche en personas con EA u otras demencias).

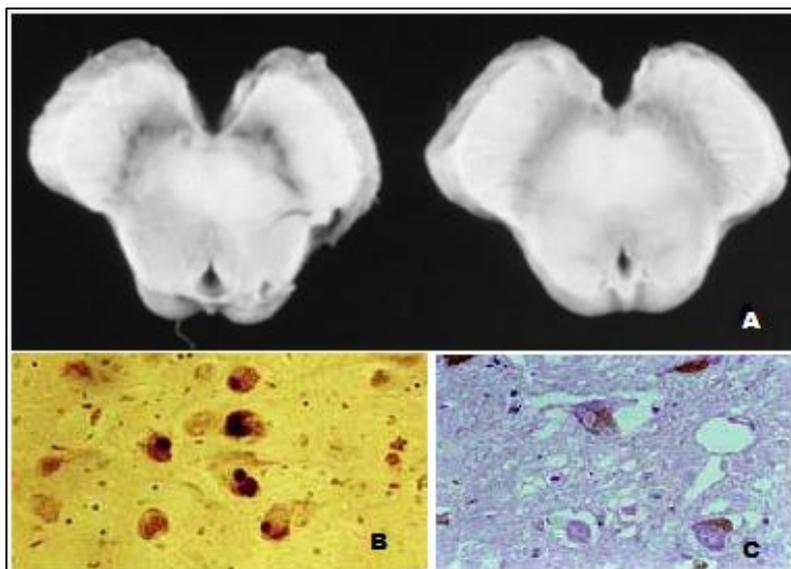
Por tanto, la melatonina (además de inhibir a la AChE) cuenta con otras muchas propiedades que pueden convertirla en una opción más que válida en la lucha contra la EA: propiedades antioxidantes, antiapoptóticas, anti-amiloideas, reguladoras del sueño, etc. (185).



**Figura 10.** Principales dianas terapéuticas en la EA (113).

## 7.2 ENFERMEDAD DE PARKINSON (EP)

La EP es la segunda enfermedad neurodegenerativa más común después de la EA y que ocurre con más frecuencia en personas de edad avanzada (186). Se cree que afecta aproximadamente al 1% de la población mayor de 55 años (187). Histopatológicamente, se caracteriza por la pérdida progresiva de neuronas dopaminérgicas en la pars compacta de la sustancia negra (pcSN) y en el locus ceruleus (Figura 11) (188), y por la aparición de cuerpos de Lewy (inclusiones citoplasmáticas eosinofílicas de forma circular con un núcleo proteico rodeado de un halo periférico en las neuronas dopaminérgicas degeneradas, características aunque no patognomónicas de la EP). Los cuerpos de Lewy (CL) (Figura 11) dan lugar a disposiciones anómalas de la tubulina y otras proteínas asociadas a microtúbulos (MAP1 y MAP2) (186,189). El agotamiento de neuronas dopaminérgicas en EP aparece clínicamente en forma de síntomas motores graves, entre los que se incluyen temblor de reposo, bradicinesia, rigidez en rueda dentada y alteración de los reflejos posturales (hipertonía flexora de tronco y extremidades) (186).



**Figura 11.** (A) Corte macroscópico de los pedúnculos cerebrales a nivel de la sustancia negra (SN) en un individuo normal (izquierda) y en un paciente con EP, que presenta despigmentación de la SN (derecha) (<http://pathology.mc.duke.edu/neuropath/CNSlecture4/CNSlecture4.htm>). Microfotografía de cuerpos de Lewy en neuronas de la pars compacta de la SN teñidos (B) mediante la técnica de la  $\alpha$ -sinucleína y (C) con Hematoxilina y Eosina (<http://www.neurology.org/content/63/6/1093/F1.expansion.html>).

La etiología exacta de la EP está aún por dilucidar. Las teorías que han cobrado más fuerza son aquellas que hablan de un origen genético y/o ambiental (190). Diferentes estudios clínicos, epidemiológicos y experimentales apoyan la teoría de que existen múltiples tóxicos ambientales implicados en el desarrollo de la EP, como pesticidas y herbicidas (rotenona, paraquat, heptacloro, dieldrina), metales (manganeso, hierro, cobre), productos de drogas sintéticas (MPTP) y diversos alimentos procedentes de plantas y productos naturales tóxicos para el ser humano (cícadas, alcaloides beta-carbolina) (191–193).

Varias investigaciones han demostrado claramente que durante la EP, las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra están sujetas a estrés oxidativo y nitrosativo, dando lugar a disfunción mitocondrial, inhibición del proteasoma y agregación de proteínas, todos ellos eventos que finalmente conducen a muerte celular (194,195). Esto demuestra que, al igual que en la EA, el estrés oxidativo también está relacionado con la etiopatogénesis de la EP. Así, se ha encontrado en cerebros de personas con EP daño del ADN por ROS (196), peroxidación lipídica, modificación oxidativa de proteínas (197), niveles de glutatión (GSH) reducidos y activación aumentada de la MAO (198), que indican una disminución de los mecanismos antioxidantes efectivos (194). La oxidación de la dopamina por parte de la MAO conduce a la formación de ROS (199) y, si éstos no son detoxificados correctamente por el GSH, se formará peróxido de hidrógeno que potencialmente podría inducir la síntesis de radicales hidroxilo altamente reactivos.

Actualmente, los únicos tratamientos aprobados para actuar contra la EP son los agentes farmacológicos que atenúan los síntomas de la enfermedad.

El efecto neuroprotector de la melatonina sobre la EP ha sido demostrado mediante múltiples modelos experimentales. Así por ejemplo, se observó que daños producidos por el estrés oxidativo secundario a la administración de MPTP, neurotoxina que produce síntomas similares a los encontrados en EP (189), fueron antagonizados por la melatonina (200). Además, la melatonina promueve eficazmente el reordenamiento del citoesqueleto desorganizado por el depósito de CL y mejora los síntomas típicos del parkinsonismo (201). A parte de evitar la formación de NO y la compactación de especies reactivas de nitrógeno, la melatonina y su metabolito AMK potencian en cultivos de células dopaminérgicas la supervivencia celular y otros efectos protectores, tales como la regulación positiva de enzimas antioxidantes (Cu, ZnSOD, MnSOD, GPx) (202). En modelos animales toxicológicos en los que “se induce” EP, la inhibición del complejo I mitocondrial es una de las principales causas de neurodegeneración (186). Por tanto, sería interesante saber si esta disfunción mitocondrial es también relevante en el paciente con EP, pues investigaciones recientes no han revelado diferencias significativas en la actividad de los complejos mitocondriales I, II/III y IV en ciertos tipos celulares (p.ej. plaquetas) de estos pacientes (203). Sin embargo, esto no excluye que pueda existir cierta disfunción mitocondrial nigroestriatal en etapas avanzadas de EP debido al deterioro causado por el estrés oxidativo. La melatonina ha demostrado ser capaz de proteger a la mitocondria del daño oxidativo, al antagonizar a MPP+ (evitando así la inhibición del complejo I mitocondrial) y activar a Cdk5, que escinde a p35 y da lugar a p25 (204), quinasas a su vez implicadas en la función y la plasticidad neuronal (205).

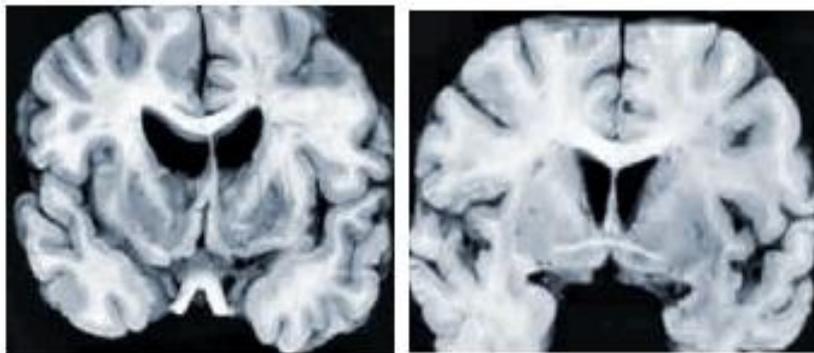
Se han estudiado los patrones de secreción de melatonina en pacientes con EP y se ha visto que aquellos tratados con Levodopa presentan un pico nocturno de melatonina mayor que aquellos a los que no se les ha administrado, todo esto en comparación con sujetos sanos control (206). Por lo tanto, bajo tratamiento con Levodopa los niveles de melatonina aumentaron de forma significativa en días. Sin embargo no se puede atribuir el éxito de este resultado exclusivamente a la levodopa, ya que pudiera ser que se tratase de un mecanismo adaptativo en respuesta al proceso neurodegenerativo y que la melatonina fuese capaz de aumentar su secreción, mostrando así un efecto neuroprotector endógeno *per se* hasta ahora desconocido. En ratas, las fluctuaciones de los niveles de melatonina en suero coinciden con variaciones en la función motora. Dichas variaciones se han atribuido a la interacción de diversas monoaminas con la melatonina en el complejo estriatal (207). De hecho, se ha sugerido que el efecto inhibitorio de la melatonina sobre la actividad motora podría ser una de las posibles causas de los episodios de *wearing-off* (falta de respuesta a levodopa después de haber pasado un tiempo de varias semanas o meses desde que se inició el tratamiento) que con frecuencia ocurren en pacientes con EP.

Por último, en estudios realizados en enfermos de Parkinson para ver el efecto de la melatonina sobre las alteraciones del sueño, se observó un aumento significativo en el número total de horas de sueño en aquellos pacientes a los que se les administró melatonina a dosis altas (50 mg/d) durante 10 semanas, en comparación con aquellos a los que solo se les administró 5 mg/d o simplemente placebo (208).

### 7.3 ENFERMEDAD DE HUNTINGTON (EH)

La EH o también llamada Corea de Huntington es un trastorno neurodegenerativo que se caracteriza clínicamente por deterioro motor progresivo, déficit cognitivo y alteraciones psiquiátricas (209,210). Se trata de una enfermedad genética de transmisión autosómica dominante causada por una mutación dinámica del triplete CAG en el gen que codifica para la huntingtina (HTT), una proteína citoplasmática cuyas funciones no se conocen con exactitud (210). La HTT mutada es altamente tóxica y causa degeneración del núcleo estriado con pérdida selectiva de neuronas GABAérgicas que expresan receptores D2, que son los que forman parte de la vía inhibitoria del complejo nigroestriatal. Así, al haber un defecto de la vía inhibitoria predominará la vía excitadora D1 del complejo, dando lugar a la hiperkinesia coreica típica de esta enfermedad. Además, existen numerosas evidencias que sugieren que cuando el gen que codifica para la HTT se muta, ésta adopta una conformación anómala (211). La importancia de este dato reside en que la concentración en suero de dicha HTT anómala podría ser usada en un futuro como un marcador de diagnóstico precoz de la EH, aparte del ya utilizado número de repeticiones del triplete CAG.

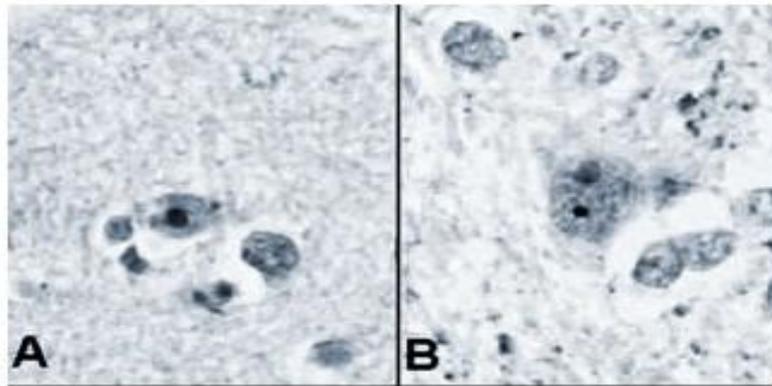
El curso clínico de la EH se caracteriza por una aparición tardía de los síntomas, entre la 4ª-5ª década de la vida (cuando el número de repeticiones del triplete CAG es superior a 39), y se presenta en forma de movimientos coreicos (espasmódicos, involuntarios, amplios y bruscos que afectan en un primer momento a las extremidades y a la musculatura facial, para luego acabar siendo generalizados) (212), síntomas psiquiátricos (problemas afectivos, cambios de personalidad, irritabilidad, agresividad, brotes psicóticos, deseo de suicidio) y degeneración neurológica progresiva que lleva a demencia (213,214). Los síntomas neurológicos no aparecen hasta estadios más avanzados de la enfermedad y se describen como: déficit cognitivo, alteraciones del lenguaje, alteraciones del sueño y del ritmo circadiano, disartria, disfagia, distonía, tics, signos de disfunción cerebelosa, etc.



**Figura 12.** Alteraciones macroscópicas producidas por la EH. En un individuo con EH (imagen izquierda) se aprecia atrofia del núcleo caudado y del putamen. La imagen derecha corresponde a un individuo control normal (215).

Histopatológicamente, desde un punto de vista macroscópico, los pacientes con EH presentan atrofia de varias estructuras del SNC: córtex cerebral, sustancia blanca subcortical, tálamo, etc (Figura 12). Y microscópicamente, vemos los denominados

cuerpos de inclusión intranuclear (Figura 13), que son patognomónicos de esta enfermedad y que además de en el núcleo de las neuronas, pueden encontrarse también en el citoplasma, las dendritas o los terminales axónicos. En realidad se trata de grandes agregados de HTT anómala que con frecuencia se aíslan en los núcleos basales de pacientes con EH (216,217).



**Figura 13.** Cortes histológicas de corteza cerebral (A) y del núcleo caudado (B) de individuos con EH, en los que se observan cuerpos de inclusión intranuclear (215).

Actualmente, no existe ningún tratamiento que cure la enfermedad ni que impida la progresión de la misma. En este momento, los estudios se centran en la búsqueda de dianas terapéuticas que, al menos, retrasen el proceso de degeneración neuronal. En este contexto, varios estudios experimentales hablan de que quizás la melatonina pueda tener impacto en la EH por sus efectos antioxidantes, neuroprotectores y antiapópticos. Pero, hoy por hoy, el papel de la melatonina en la EH no está del todo claro y requiere mayor investigación. Por ejemplo, un posible campo de investigación podría ser el estudio del efecto de la melatonina sobre las alteraciones del sueño presentes en estos enfermos (189), ya que se ha visto que dichas alteraciones se correlacionan con anomalías en la secreción de melatonina, incluso en etapas tempranas de la EH. Pues, aunque los niveles medios diurnos de melatonina no se encuentran alterados, el pico diurno de melatonina se produce 90 minutos más tarde en enfermos de Huntington que en sujetos sanos control, siendo dicho retraso en la secreción de melatonina estadísticamente significativo (218). Por otra parte, se ha visto que los niveles diurnos de melatonina están fuertemente correlacionados tanto con el trastorno motor como con el deterioro funcional que presentan estos pacientes, por lo que se espera que los niveles de melatonina disminuyan a medida que progresa la enfermedad (218). Otro campo de investigación sin explorar es el efecto de la melatonina sobre la disfunción mitocondrial presente también en EH, producida por la toxicidad secundaria a la mutación de la HTT (219).

En uno de los pocos trabajos publicados que hay sobre el tema, se realizó un examen detallado de las propiedades neuroprotectoras de la melatonina en un modelo genético de ratón para EH (220), en el que se vio que la melatonina retrasaba el inicio de la enfermedad y prolongaba la vida de estos animales. Además, se observó que los niveles de los receptores de melatonina MT1 se encontraban disminuidos en las células del

núcleo estriado (en cultivos celulares, en cerebro de ratón, en cerebro humano y en el núcleo estriado bajo efectos tóxicos por HTT mutada), de tal forma que cuanto más avanzado era el estadio de la enfermedad mayor era el agotamiento de los receptores MT1. Dichos niveles disminuidos de MT1 repercuten negativamente en las células, ya que aquellas que carecen de éstos se vuelven más vulnerables a la muerte celular, mientras que la sobreexpresión de MT1 aumenta la resistencia a ésta (220). Esto es importante porque se ha visto que la administración exógena de melatonina contrarresta el agotamiento del receptor MT1 secundario a toxicidad por HTT mutada, tanto en experimentos in vitro como in vivo. Sin embargo, se vio que la melatonina tenía poco o ningún efecto inhibitorio sobre la fibrilación inducida por la HTT anómala (221).

#### **7.4 ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA (ELA)**

La ELA es una enfermedad con un curso clínico fatal que se caracteriza por la degeneración de motoneuronas debida a una dramática desmielinización del asta anterior de la médula espinal, afectando tanto a la primera como a la segunda motoneurona (148). En su etiología participan principalmente tres mecanismos etiopatogénicos: (a) mutaciones en el gen de la SOD-1, que dan lugar a una mayor toxicidad en el medio celular con mayor reactividad hacia substratos anormales y una habilidad deteriorada para unirse al zinc y, por tanto, una capacidad antioxidante reducida de la SOD-1; (b) mutaciones en genes que codifican para neurofilamentos del citoesqueleto, que hacen que éstos sufran modificaciones oxidativas o hiperfosforilaciones de proteínas que conducen a degeneración motora selectiva del axón; (c) excitotoxicidad causada por niveles elevados de glutamato en el LCR junto a pérdida de transportadores excitables de aminoácidos (148,189).

En cuanto al cuadro clínico de presentación de la enfermedad, aunque los síntomas tempranos varían de unos sujetos a otros, todos los pacientes suelen presentar los siguientes trastornos: debilidad muscular para la marcha, alteración de la coordinación en alguna de sus extremidades (las manos especialmente), fatiga inusual en brazos o piernas, dificultad para hablar, calambres musculares y tics nerviosos, etc. El debilitamiento muscular es el síntoma princeps de esta enfermedad, que se caracteriza por su capacidad para extenderse desde partes distales del cuerpo a más proximales y que en estadios avanzados de la enfermedad acaba por convertirse en una verdadera parálisis muscular, provocando problemas para masticar, tragar y respirar. Si bien es verdad que la enfermedad progresa de distal a proximal (es decir, que las extremidades son lo primero que se afectan y desde éstas progresa hacia el tronco), la afectación no es simétrica (p.ej. un brazo puede estar más afectado que el otro).

A día de hoy no se dispone de ningún tratamiento prometedor que vaya a cambiar el curso clínico de la enfermedad. El único compuesto utilizado que ha demostrado aumentar ligeramente el tiempo de supervivencia es una anti-excitotoxina, el Riluzol.

Al igual que en el resto de enfermedades neurodegenerativas de las que hemos hablado a lo largo de este trabajo, el estrés oxidativo parece ser uno de los principales implicados en las alteraciones celular y extracelular de la ELA (148), por lo que el uso de compuestos

antioxidantes como la melatonina suponen una de las futuras estrategias terapéuticas para combatir la enfermedad. Así por ejemplo, en pacientes con ELA los niveles de proteínas carboniladas (marcador de estrés oxidativo) en suero son especialmente altos, pero éstos se normalizaron tras la administración de melatonina

Por lo tanto, la melatonina podría convertirse en un candidato perfecto para promover neuroprotección en pacientes con ELA (222). Como ya se ha mencionado antes, su amplio espectro de efectos antioxidantes entre los que se incluyen la eliminación de radicales libres, la estimulación de la GPX y otras enzimas protectoras como la iNOS podrían convertirla en una potencial estrategia terapéutica contra la ELA (171, 172), pues ha demostrado frenar la progresión de la enfermedad y prolongar la esperanza de vida (148) en un modelo de ratones transgénicos para ELA en el que la SOD-1 estaba mutada (G93A) (223).

Dado que la melatonina parece estar libre de efectos secundarios incluso en casos de administración a largo plazo, podría usarse como profilaxis para tratar a aquellos pacientes con riesgo de desarrollar ELA, que expresan marcadores genéticos asociados con la enfermedad o que muestren signos tempranos de enfermedad de motoneurona, como deterioro del control motor.

La combinación de eficacia preclínica que ha demostrado esta indolamina junto con la seguridad probada en humanos, sugiere que altas dosis de melatonina son aptas para la realización de ensayos clínicos en enfermos con ELA, que tengan como objetivo la neuroprotección mediante mecanismos antioxidantes (224).

## **8. CONCLUSIONES**

La prevalencia cada vez mayor de enfermedades neurodegenerativas en países desarrollados y la ausencia de tratamientos efectivos y/o bien tolerados, ha incentivado la investigación en este campo, tanto por parte de la comunidad científica que busca entender la etiopatogenia y la fisiopatología de estas enfermedades, así como por parte de la industria farmacéutica, que tiene como objetivo diseñar nuevas moléculas bien con propiedades curativas o bien, simplemente, con capacidad para modificar el curso clínico de estas enfermedades. Como ya hemos mencionado a lo largo del trabajo, numerosos estudios demuestran que el estrés oxidativo está implicado en la patogénesis de un buen número de enfermedades neurodegenerativas tales como la EA, la EP, la EH o la ELA. En todas ellas, parece que el exceso de estrés oxidativo juega un papel importante en los procesos fisiopatológicos de neurodegeneración, y que la melatonina posee las propiedades neuroprotectoras adecuadas para frenar o, simplemente, ralentizar la progresión de estas enfermedades.

La melatonina ha demostrado ser un potente antioxidante tanto en estudios in vitro como in vivo de diversos modelos experimentales de enfermedades neurodegenerativas. Su eficacia como antioxidante no solo se basa en la eliminación de radicales libres, sino también en la regulación de diversas enzimas antioxidantes como la GPx, la GR y la SOD, y en una menor síntesis de radicales libres por parte de las neuronas, los astrocitos y otras células de la microglia. Además, la melatonina también aumenta la eficiencia de la cadena

transportadora de electrones mitocondrial. Por otro lado, esta indolamina es capaz de retrasar el proceso de neurodegeneración gracias a sus acciones antiapoptóticas, entre las que se incluyen la regulación de múltiples factores o proteínas implicadas en la cascada de la apoptosis, la prevención en la fragmentación del ADN nuclear y mitocondrial, etc. Por último, la melatonina también posee propiedades antiinflamatorias al ser capaz de inhibir a las células activadas de la microglía y evitar la síntesis de citocinas y quimiocinas proinflamatorias.

Gracias a todas estas acciones neuroprotectoras, la melatonina podría convertirse en una excelente candidata para tratar enfermedades neurodegenerativas tales como EA, EH y ELA, con un alto valor terapéutico. En el caso de otras enfermedades neurológicas, como la EP, la evidencia es menos concluyente. Además, ya que la deficiencia de melatonina parece ser una causa común en algunas de estas patologías neurodegenerativas, la administración de melatonina o sus análogos sintéticos puede ser recomendable no solo para detener el progreso de esta enfermedad sino también para prevenir su aparición.

La mayoría de los estudios mencionados a lo largo de este trabajo aportan evidencias que apoyan el uso de esta indolamina en ensayos clínicos de pacientes con enfermedades neurodegenerativas, como terapia preventiva para frenar la progresión de los distintos eventos que conducen a la neurodegeneración. Además, la melatonina es normalmente bien tolerada y no se han observado efectos secundarios importantes tras su administración, por ello su uso ha sido aprobado en humanos.

En cuanto a la administración exógena de melatonina, las dosis empleadas en humanos a veces son innecesariamente bajas si tomamos en consideración la baja afinidad de esta hormona por unirse a otros tejidos, su baja vida media o las potencias relativas de los diferentes agonistas de melatonina existentes en el mercado. Además de ser generalmente más potentes que la molécula nativa, los análogos de la melatonina se emplean en cantidades considerablemente más altas. En algunos estudios realizados en humanos se ha administrado a dosis altas (hasta 1 g melatonina/día durante 30 días) y se ha visto que era segura y bien tolerada, incluso en tratamientos a largo plazo. Por tanto, para clarificar sus potenciales usos terapéuticos en la clínica sería necesario realizar estudios adicionales que empleen dosis de melatonina más altas que las empleadas hasta ahora.

Sin embargo y a pesar de todo lo expuesto, lamentablemente el número de ensayos clínicos controlados aleatorizados que testen la efectividad de esta molécula en desórdenes neurodegenerativos, es aún muy reducido y su calidad es a menudo bastante pobre. Las limitaciones de los ensayos de intervención en este campo se deben al largo periodo de inducción que poseen estas enfermedades, haciendo que este tipo de estudios no sean muy viables tanto por sus altos costes como por el excesivo tiempo requerido para su realización.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. Giovanni Polimeni, Emanuela Esposito, Valentina Bevelacqua, Claudio Guarneri, Salvatore Cuzzocrea: Role of melatonin supplementation in neurodegenerative disorders. *Frontiers in Bioscience* 2014; 19, 429-446.
2. B. Halliwell: Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br J Exp Pathol.* 1989; 70:737-57.
3. D. M. Guidot, J. E. Repine, A. D. Kitlowski, S. C. Flores, S. K. Nelson, R. M. Wright and J. M. McCord: Mitochondrial respiration scavenges extramitochondrial superoxide anion via a nonenzymatic mechanism. *J Clin Invest.* 1995; 96:1131-6. doi:10.1172/JCI118100  
<http://dx.doi.org/10.1172/JCI118100>
4. S. Cuzzocrea, C. Thiemermann and D. Salvemini: Potential therapeutic effect of antioxidant therapy in shock and inflammation. *Curr Med Chem.* 2004; 11:1147-62.
5. M. K. Shigenaga, T. M. Hagen and B. N. Ames: Oxidative damage and mitochondrial decay in aging. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994; 91:10771-8. doi: 10.1073/pnas.91.23.10771  
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.91.23.10771>
6. B. N. Ames: Endogenous oxidative DNA damage, aging, and cancer. *Free Radic Res Commun.* 1989; 7:121-8. doi:10.3109/10715768909087933  
<http://dx.doi.org/10.3109/10715768909087933>
7. K. J. Davies: Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *IUBMB Life.* 2000; 50:279-89. doi: 10.1080/15216540051081010  
<http://dx.doi.org/10.1080/15216540051081010>
8. M. E. Gotz, G. Kunig, P. Riederer and M. B. Youdim: Oxidative stress: free radical production in neural degeneration. *Pharmacol Ther.* 1994; 63:37-122. doi: 10.1016/0163-7258(94)90055-8  
[http://dx.doi.org/10.1016/0163-7258\(94\)90055-8](http://dx.doi.org/10.1016/0163-7258(94)90055-8)
9. D. X. Tan, L. C. Manchester, R. J. Reiter, W. B. Qi, M. Zhang, S. T. Weintraub, J. Cabrera, R. M. Sainz and J. C. Mayo: Identification of highly elevated levels of melatonin in bone marrow: its origin and significance. *Biochim Biophys Acta.* 1999; 1472:206-14. doi:10.1016/S0304-4165(99)00125-7  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4165\(99\)00125-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4165(99)00125-7)
10. S. M. Reppert: Melatonin receptors: molecular biology of a new family of G protein-coupled receptors. *J Biol Rhythms.* 1997; 12:528-31. doi:

10.1177/074873049701200606

<http://dx.doi.org/10.1177/074873049701200606>

11. M. Becker-Andre, I. Wiesenberg, N. Schaeren-Wiemers, E. Andre, M. Missbach, J. H. Saurat and C. Carlberg: Pineal gland hormone melatonin binds and activates an orphan of the nuclear receptor superfamily. *J Biol Chem.* 1994; 269:28531-4.
12. R. Hardeland, D. P. Cardinali, V. Srinivasan, D. W. Spence, G. M. Brown and S. R. Pandi-Perumal: Melatonin-A pleiotropic, orchestrating regulator molecule. *Prog Neurobiol.* 2010.
13. D. Pozo, S. Garcia-Maurino, J. M. Guerrero and J. R. Calvo: mRNA expression of nuclear receptor RZR/RORalpha, melatonin membrane receptor MT, and hydroxindole-O-methyltransferase in different populations of human immune cells. *J Pineal Res.* 2004; 37:48-54.[doi:10.1111/j.1600-079X.2004.00135.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2004.00135.x)  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-079X.2004.00135.x>
14. O. Nosjean, M. Ferro, F. Coge, P. Beauverger, J. M. Henlin, F. Lefoulon, J. L. Fauchere, P. Delagrangue, E. Canet and J. A. Boutin: Identification of the melatonin-binding site MT3 as the quinone reductase 2. *J Biol Chem.* 2000; 275:31311-7.  
[doi:10.1074/jbc.M005141200](https://doi.org/10.1074/jbc.M005141200)  
<http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M005141200>
15. D. X. Tan, L. C. Manchester, M. P. Terron, L. J. Flores, H. Tamura and R. J. Reiter: Melatonin as a naturally occurring co-substrate of quinone reductase-2, the putative MT3 melatonin membrane receptor: hypothesis and significance. *J Pineal Res.* 2007;43:317-20.[doi:10.1111/j.1600-079X.2007.00513.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2007.00513.x)  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-079X.2007.00513.x>
16. R. J. Reiter, S. D. Paredes, L. C. Manchester and D. X. Tan: Reducing oxidative/nitrosative stress: a newly-discovered genre for melatonin. *Crit Rev BiochemMolBiol.* 2009;44:175-200.[doi:10.1080/10409230903044914](https://doi.org/10.1080/10409230903044914)  
<http://dx.doi.org/10.1080/10409230903044914>
17. Wang X. The antiapoptotic activity of melatonin in neurodegenerative diseases. *CNS Neurosci Ther.* 2009;15(4):345–57.
18. Jin Z, El-Deiry WS. Overview of cell death signaling pathways. *Cancer Biol Ther* 2005;4:139–163.
19. Friedlander RM. Apoptosis and caspases in neurodegenerative diseases. *N Engl J Med* 2003;348:1365–1375.
20. Namura S, Nagata I, Takami S, Masayasu H, Kikuchi H. Ebselen reduces cytochrome c release from mitochondria and subsequent DNA fragmentation after transient focal cerebral ischemia in mice. *Stroke* 2001;32:1906–1911.

21. Wang X, Zhu S, Drozda M, Zhang W, Stavrovskaya IG, Cattaneo E, Ferrante RJ, Kristal BS, Friedlander RM. Minocycline inhibits caspase-independent and -dependent mitochondrial cell death pathways in models of Huntington's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100:10483–10487.
22. Zhu S, Stavrovskaya IG, Drozda M, Kim BY, Ona V, Li M, Sarang S, Liu AS, Hartley DM, Wu du C, et al.
23. Minocycline inhibits cytochrome c release and delays progression of amyotrophic lateral sclerosis in mice. *Nature* 2002; 417:74–78.
24. Zhang WH, Wang X, Narayanan M, Zhang Y, Huo C, Reed JC, Friedlander RM. Fundamental role of the Rip2/caspase-1 pathway in hypoxia and ischemia-induced neuronal cell death. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 16012–16017.
25. Vila M, Przedborski S. Targeting programmed cell death in neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurosci* 2003;4:365–375.
26. Wang X, Figueroa BE, Stavrovskaya IG, Zhang Y, Zhu S, Day AL, Kristal BS, Friedlander RM. Methazolamide and melatonin inhibit mitochondrial cytochrome c release and are neuroprotective in experimental models of ischemic injury. *Stroke* 2009;40:1877–1885
27. Lee BI, Lee DJ, Cho KJ, Kim GW. Early nuclear translocation of endonuclease G and subsequent DNA fragmentation after transient focal cerebral ischemia in mice. *Neurosci Lett* 2005; 386: 23–27.
28. Kroemer G, Reed JC. Mitochondrial control of cell death. *Nat Med* 2000;6:513–519.
29. Xie J, Awad KS, Guo Q. RNAi knockdown of Par-4 inhibits neurosynaptic degeneration in ALS-linked mice. *J Neurochem* 2005;92:59–71.
30. Culmsee C, Landshamer S. Molecular insights into mechanisms of the cell death program: Role in the progression of neurodegenerative disorders. *Curr Alzheimer Res* 2006;3:269–283.
31. Chetsawang J, Govitrapong P, Chetsawang B. Melatonin inhibits MPP<sup>+</sup>-induced caspase-mediated death pathway and DNA fragmentation factor-45 cleavage in SK-N-SH cultured cells. *J Pineal Res* 2007;43:115–120
32. Jordan J, Cena V, Prehn JH. Mitochondrial control of neuron death and its role in neurodegenerative disorders. *J Physiol Biochem* 2003;59:129–141.
33. Weishaupt JH, Bartels C, Polking E, Dietrich J, Rohde G, Poeggeler B, Mertens N, 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.

34. Kilic E, Kilic U, Yulug B, Hermann DM, Reiter RJ. Melatonin reduces disseminate neuronal death after mild focal ischemia in mice via inhibition of caspase-3 and is suitable as an add-on treatment to tissue-plasminogen activator. *J Pineal Res* 2004;36:171–176.
35. Jacob S, Poeggeler B, Weishaupt JH, Siren AL, Hardeland R, Bahr M, Ehrenreich H. Melatonin as a candidate compound for neuroprotection in amyotrophic lateral sclerosis (ALS): High tolerability of daily oral melatonin administration in ALS patients. *J Pineal Res* 2002;33:186–187.
36. Southgate G, Daya S. Melatonin reduces quinolinic acid-induced lipid peroxidation in rat brain homogenate. *Metab Brain Dis* 1999;14:165–171.
37. 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;37:252–256.
38. Andrabi SA, Sayeed I, Siemen D, Wolf G, Horn TF. Direct inhibition of the mitochondrial permeability transition pore: A possible mechanism responsible for anti-apoptotic effects of melatonin. *Faseb J* 2004;18:869–871.
39. Kilic E, Kilic U, Reiter RJ, Bassetti CL, Hermann DM. Tissue-plasminogen activator-induced ischemic brain injury is reversed by melatonin: Role of iNOS and Akt. *J Pineal Res* 2005; 39:151–155.
40. Koh PO. Melatonin prevents the injury-induced decline of Akt/forkhead transcription factors phosphorylation. *J Pineal Res* 2008;45:199–203
41. Kilic U, Kilic E, Reiter RJ, Bassetti CL, Hermann DM. Signal transduction pathways involved in melatonin-induced neuroprotection after focal cerebral ischemia in mice. *J Pineal Res* 2005;38:67–71
42. 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.
43. Koh PO. Melatonin attenuates the cerebral ischemic injury via the MEK/ERK/p90RSK/bad signaling cascade. *J VetMed Sci* 2008; 70:1219–1223.
44. Kratsovnik E, Bromberg Y, Sperling O, Zoref-Shani E. Oxidative stress activates transcription factor NF- $\kappa$ B-mediated protective signaling in primary rat neuronal cultures. *J Mol Neurosci* 2005;26:27–32.
45. Hu Y, Benedict MA, Wu D, Inohara N, Nunez G. Bcl-XL interacts with Apaf-1 and inhibits Apaf-1-dependent caspase-9 activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:4386–4391.

46. Guo Q, Xie J, Chang X, Du H. Prostate apoptosis response-4 enhances secretion of amyloid beta peptide 1-42 in human neuroblastoma IMR-32 cells by a caspase-dependent pathway. *J Biol Chem* 2001;276:16040–16044.
47. F. Anton-Tay, G. Ramirez, I. Martinez and G. Benitez-King: In vitro stimulation of protein kinase C by melatonin. *Neurochem Res.* 1998; 23:601-6.
48. Tocharus C, Puriboriboon Y, Junmanee T, Tocharus J, Ekthuwapranee K GP. Melatonin enhances adult rat hippocampal progenitor cell proliferation via ERK signaling pathway through melatonin receptor. *Neuroscience.* 2014;275:314-21. doi:10.1016/j.neuroscience.2014.06.026. Epub 2014 Jun 21.
49. I. Antolin, J. C. Mayo, R. M. Sainz, L. del Brio Mde, F. Herrera, V. Martin and C. Rodriguez: Protective effect of melatonin in a chronic experimental model of Parkinson's disease. *Brain Res.* 2002; 943: 163-73.
50. Y. X. Shen, S. Y. Xu, W. Wei, X. L. Wang, H. Wang & X. Sun: Melatonin blocks rat hippocampal neuronal apoptosis induced by amyloid beta-peptide 25-35. *J Pineal Res.*2002;32:163-7.doi:10.1034/j.1600-079x.2002.1o839.x  
<http://dx.doi.org/10.1034/j.1600-079x.2002.1o839.x>
51. M. T. Lin, and M. F. Beal: Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases.*Nature.* 2006; 443: 787 95. doi: 10.1038/nature05292  
<http://dx.doi.org/10.1038/nature05292>
52. R. J. Reiter, D. X. Tan, E. Gitto, R. M. Sainz, J. C. Mayo, J. Leon, L. C. Manchester, Vijayalaxmi, E. Kilic and U. Kilic: Pharmacological utility of melatonin in reducing oxidative cellular and molecular damage. *Pol J Pharmacol.* 2004; 56:159-70.
53. S. M. MohanKumar, A. Campbell, M. Block and B. Veronesi: Particulate matter, oxidative stress and neurotoxicity. *Neurotoxicology.* 2008; 29: 479-88. doi: 10.1016/j.neuro.2007.12.004  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuro.2007.12.004>
54. A. M. Lin, and L. T. Ho: Melatonin suppresses iron-induced neurodegeneration in rat brain. *Free Radic Biol Med.*2000;28:904-11.doi:10.1016/S0891-5849(00)00169-6  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00169-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00169-6)
55. J. Emerit, M. Edeas and F. Bricaire: Neurodegenerative diseases and oxidative stress.*Biomed Pharmacother.*2004;58:39-46.doi:10.1016/j.biopha.2003.11.004  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2003.11.004>
56. A. Campbell, M. A. Smith, L. M. Sayre, S. C. Bondy and G. Perry: Mechanisms by which metals promote events connected to neurodegenerative diseases. *Brain Res Bull.*2001;55:125-32.doi:10.1016/S0361-9230(01)00455-5  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0361-9230\(01\)00455-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0361-9230(01)00455-5)
57. Querfurth HW, Laferla FM. Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2010; 362:329–344.

58. Alzheimer's Association, Thies W, Bleiler L. 2011 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement* 2011; 7:208–244.
59. M. L. Seabra, M. Bignotto, L. R. Pinto, Jr. and S. Tufik: Randomized, double-blind clinical trial, controlled with placebo, of the toxicology of chronic melatonin treatment. *J Pineal Res.* 2000; 29:193-200. doi: 10.1034/j.1600-0633.2002.290401.x  
<http://dx.doi.org/10.1034/j.1600-0633.2002.290401.x>
60. B. J. Kelley and R. C. Petersen: Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *NeurolClin.* 2007;25:577-609. doi:10.1016/j.ncl.2007.03.008  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ncl.2007.03.008>
61. Lars, M.I.; Jürgen, G. Amyloid- $\beta$  and tau—A toxic pas de deux in Alzheimer's disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 2011, 12, 67–72.
62. . D. T. Weldon, S. D. Rogers, J. R. Ghilardi, M. P. Finke, J. P. Cleary, E. O'Hare, W. P. Esler, J. E. Maggio and P. W. Mantyh: 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; 18:2161-73.
63. Wu, Y.H.; Swaab, D.F. The human pineal gland and melatonin in aging and Alzheimer's disease. *J. Pineal Res.* 2005, 38, 145–152.
64. Wu, Y.H.; Feenstra, M.G.; Zhou, J.N.; Liu, R.Y.; Torano, J.S.; van Kan, H.J.; Fischer, D.F.; Ravid, R.; Swaab, D.F. Molecular changes underlying reduced pineal melatonin levels in Alzheimer's disease: Alterations in preclinical and clinical stages. *J. Clin. Endocr. Metab.* 2003, 88, 5898–5906.
65. Ferrari, E.; Arcaini, A.; Gornati, R.; Pelanconi, L.; Cravello, L.; Fioravanti, M.; Solerte, S.B.; Magri, F. Pineal and pituitary-adrenocortical function in physiological aging and in senile dementia. *Exp. Gerontol.* 2000, 35, 1239–1250.
66. Ohashi, Y.; Okamoto, N.; Uchida, K.; Iyo, M.; Mori, N.; Morita, Y. Daily rhythm of serum melatonin levels and effect of light exposure in patients with dementia of the Alzheimer's type. *Biol. Psychiat.* 1999, 45, 1646–1652.
67. Liu, R.Y.; Zhou, J.N.; van Heerikhuizen, J.; Hofman, M.A.; Swaab, D.F. Decreased melatonin levels in postmortem cerebrospinal fluid in relation to aging, Alzheimer's disease, and apolipoprotein E-epsilon4/4 genotype. *J. Clin. Endocr. Metab.* 1999, 84, 323–327.
68. Zhou, J.N.; Liu, R.Y.; Kamphorst, W.; Hofman, M.A.; Swaab, D.F. Early neuropathological Alzheimer's changes in aged individuals are accompanied by decreased cerebrospinal fluid melatonin levels. *J. Pineal Res.* 2003, 35, 125–130.

69. Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 1991; 82: 239-259
70. Friedland, R.P.; Luxenberg, J.S.; Koss, E. A quantitative study of intracranial calcification in dementia of the Alzheimer's type. *Int. Psychogeriatr.* 1990, 2, 36–43.
71. Savaskan, E.; Olivieri, G.; Meier, F.; Brydon, L.; Jockers, R.; Ravid, R.; Wirz-Justice, A.; Muller-Spahn, F. Increased melatonin 1a-receptor immunoreactivity in the hippocampus of Alzheimer's disease patients. *J. Pineal Res.* 2002, 32, 59–62.
72. Savaskan, E.; Ayoub, M.A.; Ravid, R.; Angeloni, D.; Fraschini, F.; Meier, F.; Eckert, A.; Muller-Spahn, F.; Jockers, R. Reduced hippocampal MT2 melatonin receptor expression in Alzheimer's disease. *J. Pineal Res.* 2005, 38, 10–16.
73. Wu, Y.H.; Fischer, D.F.; Swaab, D.F. A promoter polymorphism in the monoamine oxidase A gene is associated with the pineal MAOA activity in Alzheimer's disease patients. *Brain Res.* 2007, 1167, 13–19.
74. Cohen-Mansfield, J.; Garfinkel, D.; Lipson, S. Melatonin for treatment of sundowning in elderly persons with dementia—A preliminary study. *Arch. Gerontol. Geriatr.* 2000, 31, 65–76.
75. Brusco, L.I.; Marquez, M.; Cardinali, D.P. Melatonin treatment stabilizes chronobiologic and cognitive symptoms in Alzheimer's disease. *Neuro Endocrinol. Lett.* 2000, 21, 39–42.
76. Brusco, L.I.; Marquez, M.; Cardinali, D.P. Monozygotic twins with Alzheimer's disease treated with melatonin: Case report. *J. Pineal Res.* 1998, 25, 260–263.
77. Cardinali, D.P.; Brusco, L.I.; Perez Lloret, S.; Furio, A.M. Melatonin in sleep disorders and jet-lag. *Neuro Endocrinol. Lett.* 2002, 23, 9–13.
78. Cardinali, D.P.; Brusco, L.I.; Liberczuk, C.; Furio, A.M. The use of melatonin in Alzheimer's disease. *Neuro Endocrinol. Lett.* 2002, 23, 20–23.
79. Karasek, M.; Reiter, R.J.; Cardinali, D.P.; Pawlikowski, M. Future of melatonin as a therapeutic agent. *Neuro Endocrinol. Lett.* 2002, 23, 118–121.
80. Singer, C.; Tractenberg, R.E.; Kaye, J.; Schafer, K.; Gamst, A.; Grundman, M.; Thomas, R.; Thal, L.J. Alzheimer's disease cooperative, SA multicenter, placebo-controlled trial of melatonin for sleep disturbance in Alzheimer's disease. *Sleep* 2003, 26, 893–901.
81. Ling, Z.Q.; Tian, Q.; Wang, L.; Fu, Z.Q.; Wang, X.C.; Wang, Q.; Wang, J.Z. Constant illumination induces Alzheimer-like damages with endoplasmic reticulum involvement and the protection of melatonin. *J. Alzheimers Dis.* 2009, 16, 287–300.

82. Selkoe, D.J. Cell biology of protein misfolding: The examples of Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Nat. Cell Biol.* 2004, 6, 1054–1061.
83. Brion, J.P.; Anderton, B.H.; Authelet, M.; Dayanandan, R.; Leroy, K.; Lovestone, S.; Octave, J.N.; Pradier, L.; Touchet, N.; Tremp, G. Neurofibrillary tangles and tau phosphorylation. *Biochem. Soc. Symp.* 2001, 67, 81–88.
84. Billingsley, M.L.; Kincaid, R.L. Regulated phosphorylation and dephosphorylation of tau protein: Effects on microtubule interaction, intracellular trafficking and neurodegeneration. *Biochem. J.* 1997, 323, 577–591.
85. Braak, E.; Braak, H.; Mandelkow, E.M. A sequence of cytoskeleton changes related to the formation of neurofibrillary tangles and neuropil threads. *Acta Neuropathol.* 1994, 87, 554–567.
86. Lin L, Huang QX, Yang SS, Chu J, Wang JZ, Tian Q. Melatonin in Alzheimer's disease. *Int J Mol Sci.* 2013;14(7):14575–93.
87. Mustapic, M.; Popovic Hadzija, M.; Pavlovic, M.; Pavkovic, P.; Presecki, P.; Mrazovac, D.; Mimica, N.; Korolija, M.; Pivac, N.; Muck-Seler, D. Alzheimer's disease and type 2 diabetes: The association study of polymorphisms in tumor necrosis factor-alpha and apolipoprotein E genes. *Metab. Brain Dis.* 2012, 27, 507–512
88. Ajala, T.; Rafi, J.; Wray, R.; Whitehead, M.W.; Zaidi, J. There may be a link between intrahepatic cholestasis of pregnancy and familial combined hyperlipidaemia: A case report. *Cases J.* 2009, 2, doi: 10.4076/1757-1626-2-8679.
89. Leszek, J.; Sochocka, M.; Gasiorowski, K. Vascular factors and epigenetic modifications in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J. Neurol. Sci.* 2012, 323, 25–32.
90. Rocchi, A.; Valensin, D.; Aldinucci, C.; Giani, G.; Barbucci, R.; Gaggelli, E.; Kozlowski, H.; Valensin, G. NMR metabolomic investigation of astrocytes interacted with Abeta(42) or its complexes with either copper(II) or zinc(II). *J. Inorg. Biochem.* 2012, 117, 326–333.
91. Rukhsana, S.; Butterfield, D.A. Role of oxidative stress in the progression of Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* 2010, 19, 341–353.
92. J. P. Brion, B. H. Anderton, M. Authelet, R. Dayanandan, K. Leroy, S. Lovestone, J. N. Octave, L. Pradier, N. Touchet and G. Tremp: Neurofibrillary tangles and tau phosphorylation. *Biochem Soc Symp.* 2001; 81-8.
93. N. Dragicevic, M. Mamcarz, Y. Zhu, R. Buzzeo, J. Tan, G. W. Arendash and P. C. Bradshaw: Mitochondrial amyloid-beta levels are associated with the extent of mitochondrial dysfunction in different brain regions and the degree of cognitive impairment in Alzheimer's transgenic mice. *J Alzheimers Dis.* 2010; 20:S535-50.

94. Selkoe, D.J. The cell biology of beta-amyloid precursor protein and presenilin in Alzheimer's disease. *Trends Cell Biol.* 1998, 8, 447–453.
95. Fisher, A.; Pittel, Z.; Haring, R.; Bar-Ner, N.; Kliger-Spatz, M.; Natan, N.; Egozi, I.; Sonego, H.; Marcovitch, I.; Brandeis, R. M1 muscarinic agonists can modulate some of the hallmarks in Alzheimer's disease: Implications in future therapy. *J. Mol. Neurosci.* 2003, 20, 349–356.
96. Lahiri, D.K. Melatonin affects the metabolism of the beta-amyloid precursor protein in different cell types. *J. Pineal Res.* 1999, 26, 137–146.
97. Matsubara, E.; Bryant-Thomas, T.; Pacheco Quinto, J.; Henry, T.L.; Poeggeler, B.; Herbert, D.; Cruz-Sanchez, F.; Chyan, Y.J.; Smith, M.A.; Perry, G.; *et al.* Melatonin increases survival and inhibits oxidative and amyloid pathology in a transgenic model of Alzheimer's disease. *J. Neurochem.* 2003, 85, 1101–1108.
98. Lahiri, D.K.; Chen, D.; Ge, Y.W.; Bondy, S.C.; Sharman, E.H. Dietary supplementation with melatonin reduces levels of amyloid beta-peptides in the murine cerebral cortex. *J. Pineal Res.* 2004, 36, 224–231.
99. Song, W.; Lahiri, D.K. Melatonin alters the metabolism of the beta-amyloid precursor protein in the neuroendocrine cell line PC12. *J. Mol. Neurosci.* 1997, 9, 75–92.
100. Zhang, Y.C.; Wang, Z.F.; Wang, Q.; Wang, Y.P.; Wang, J.Z. Melatonin attenuates beta-amyloid-induced inhibition of neurofilament expression. *Acta Pharmacol. Sin.* 2004, 25, 447–451.
101. Olivieri, G.; Hess, C.; Savaskan, E.; Ly, C.; Meier, F.; Baysang, G.; Brockhaus, M.; Muller-Spahn, F. Melatonin protects SHSY5Y neuroblastoma cells from cobalt-induced oxidative stress, neurotoxicity and increased beta-amyloid secretion. *J. Pineal Res.* 2001, 31, 320–325.
102. Quinn, J.; Kulhanek, D.; Nowlin, J.; Jones, R.; Pratico, D.; Rokach, J.; Stackman, R. Chronic melatonin therapy fails to alter amyloid burden or oxidative damage in old Tg2576 mice: Implications for clinical trials. *Brain Res.* 2005, 1037, 209–213.
103. Su, Y.; Ryder, J.; Li, B.; Wu, X.; Fox, N.; Solenberg, P.; Brune, K.; Paul, S.; Zhou, Y.; Liu, F.; *et al.* Lithium, a common drug for bipolar disorder treatment, regulates amyloid-beta precursor protein processing. *Biochemistry* 2004, 43, 6899–6908.
104. Ryder, J.; Su, Y.; Liu, F.; Li, B.; Zhou, Y.; Ni, B. Divergent roles of GSK-3 and CDK5 in APP processing. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003, 312, 922–929.
105. Phiel, C.J.; Wilson, C.A.; Lee, V.M.; Klein, P.S. GSK-3 $\alpha$  regulates production of Alzheimer's disease amyloid-beta peptides. *Nature* 2003, 423, 435–439.

106. White, A.R.; Du, T.; Laughton, K.M.; Volitakis, I.; Sharples, R.A.; Xilinas, M.E.; Hoke, D.E.; Holsinger, R.M.; Evin, G.; Cherny, R.A.; *et al.* Degradation of the Alzheimer's disease amyloid beta-peptide by metal-dependent up-regulation of metalloprotease activity. *J. Biol. Chem.* 2006, *281*, 17670–17680.
107. Tesco, G.; Tanzi, R.E. GSK-3 beta forms a tetrameric complex with endogenous PS1-CTF/NTF and beta-catenin. Effects of the D257/D385A and FAD-linked mutations. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2000, *920*, 227–232.
108. Takashima, A.; Murayama, M.; Murayama, O.; Kohno, T.; Honda, T.; Yasutake, K.; Nihonmatsu, N.; Mercken, M.; Yamaguchi, H.; Sugihara, S.; *et al.* Presenilin 1 associates with glycogen synthase kinase-3beta and its substrate tau. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1998, *95*, 9637–9641.
109. M. A. Pappolla, M. Sos, R. A. Omar, R. J. Bick, D. L. Hickson-Bick, R. J. Reiter, S. Efthimiopoulos and N. K. Robakis: Melatonin prevents death of neuroblastoma cells exposed to the Alzheimer amyloid peptide. *J Neurosci.* 1997; *17*:1683-90.
110. Poeggeler, B.; Miravalle, L.; Zagorski, M.G.; Wisniewski, T.; Chyan, Y.J.; Zhang, Y.; Shao, H.; Bryant-Thomas, T.; Vidal, R.; Frangione, B.; *et al.* Melatonin reverses the profibrillogenic activity of apolipoprotein E4 on the Alzheimer's amyloid Abeta peptide. *Biochemistry* 2001, *40*, 14995–5001.
111. Skribanek, Z.; Balaspiri, L.; Mak, M. Interaction between synthetic amyloid-beta peptide (1–40) and its aggregation inhibitors studied by electrospray ionization mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.* 2001, *36*, 1226–1229.
112. Pappolla, M.; Bozner, P.; Soto, C.; Shao, H.; Robakis, N.K.; Zagorski, M.; Frangione, B.; Ghiso, J. Inhibition of Alzheimer's beta-fibrillogenesis by melatonin. *J. Biol. Chem.* 1998, *273*, 7185–7188.
113. Simmons, L.K.; May, P.C.; Tomaselli, K.J.; Rydel, R.E.; Fuson, K.S.; Brigham, E.F.; Wright, S.; Lieberburg, I.; Becker, G.W.; Brems, D.N.; *et al.* Secondary structure of amyloid beta peptide correlates with neurotoxic activity *in vitro*. *Mol. Pharmacol.* 1994, *45*, 373–379.
114. Rosales-Corral S a., Acuña-Castroviejo D, Coto-Montes A, Boga J a., 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.
114. Pacchierotti, C.; Iapichino, S.; Bossini, L.; Pieraccini, F.; Castrogiovanni, P. Melatonin in psychiatric disorders: A review on the melatonin involvement in psychiatry. *Front. Neuroendocrin.* 2001, *22*, 18–32.
115. Yuan, H.; Pang, S.F. [125I]Iodomelatonin-binding sites in the pigeon brain: Binding characteristics, regional distribution and diurnal variation. *J. Endocrinol.* 1991, *128*, 475–482.

116. Poeggeler, B.; Miravalle, L.; Zagorski, M.G.; Wisniewski, T.; Chyan, Y.J.; Zhang, Y.; Shao, H.; Bryant-Thomas, T.; Vidal, R.; Frangione, B.; et al. Melatonin reverses the profibrillogenic activity of apolipoprotein E4 on the Alzheimer's amyloid Abeta peptide. *Biochemistry* 2001, 40, 14995–5001.
117. Quinn, J.; Kulhanek, D.; Nowlin, J.; Jones, R.; Pratico, D.; Rokach, J.; Stackman, R. Chronic melatonin therapy fails to alter amyloid burden or oxidative damage in old Tg2576 mice: Implications for clinical trials. *Brain Res.* 2005, 1037, 209–213.
118. Y. Q. Deng, G. G. Xu, P. Duan, Q. Zhang and J. Z. Wang: Effects of melatonin on wortmannin-induced tau hyperphosphorylation. *Acta Pharmacol Sin.* 2005; 26:519-26.doi:10.1111/j.1745-7254.2005.00102.x  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-7254.2005.00102.x>
119. Z. Feng, Y. Chang, Y. Cheng, B. L. Zhang, Z. W. Qu, C. Qin and J. T. Zhang: Melatonin alleviates behavioral deficits associated with apoptosis and cholinergic system dysfunction in the APP 695 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J Pineal Res.*2004;37:129-36.doi:10.1111/j.1600-079X.2004.00144.x  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-079X.2004.00144.x>
120. Z. Feng, and J. T. Zhang: Protective effect of melatonin on beta-amyloid-induced apoptosis in rat astrogloma C6 cells and its mechanism. *Free Radic Biol Med.* 2004; 37:1790-801.doi:10.1016/j.freeradbiomed.2004.08.023  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.08.023>
121. Feng, Z.; Zhang, J.T. Protective effect of melatonin on beta-amyloid-induced apoptosis in rat astrogloma C6 cells and its mechanism. *Free Radic. Biol. Med.* 2004, 37, 1790–1801.
122. Zatta, P.; Tognon, G.; Carampin, P. Melatonin prevents free radical formation due to the interaction between beta-amyloid peptides and metalions [Al(III), Zn(II), Cu(II), Mn(II), Fe(II)]. *J. Pineal Res.* 2003, 35, 98–103.
123. Feng, Z.; Chang, Y.; Cheng, Y.; Zhang, B.L.; Qu, Z.W.; Qin, C.; Zhang, J.T. Melatonin alleviates behavioral deficits associated with apoptosis and cholinergic system dysfunction in the APP 695 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J. Pineal Res.* 2004, 37, 129–136.
124. Shen, Y.X.; Xu, S.Y.; Wei, W.; Sun, X.X.; Liu, L.H.; Yang, J.; Dong, C. The protective effects of melatonin from oxidative damage induced by amyloid beta-peptide 25–35 in middle-aged rats. *J. Pineal Res.* 2002, 32, 85–89.
125. Rosales-Corral, S.; Tan, D.X.; Reiter, R.J.; Valdivia-Velazquez, M.; Martinez-Barboza, G.; Acosta-Martinez, J.P.; Ortiz, G.G. 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.

126. W. Song, and D. K. Lahiri: Melatonin alters the metabolism of the beta-amyloid precursor protein in the neuroendocrine cell line PC12. *J Mol Neurosci.* 1997; 9:75-92. doi:10.1007/BF02736852  
<http://dx.doi.org/10.1007/BF02736852>
127. E. P. Jesudason, B. Baben, B. S. Ashok, J. G. Masilamoni, R. Kirubakaran, W. C. Jebaraj and R. Jayakumar: Anti-inflammatory effect of melatonin on A beta vaccination in mice. *Mol Cell Biochem.* 2007; 298:69-81. doi:10.1007/s11010-006-9353-x  
<http://dx.doi.org/10.1007/s11010-006-9353-x>
128. D. J. Selkoe: Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science.* 2002; 298:789-91. doi:10.1126/science.1074069  
<http://dx.doi.org/10.1126/science.1074069>
129. L. Saragoni, P. Hernandez and R. B. Maccioni: Differential association of tau with subsets of microtubules containing posttranslationally-modified tubulin variants in neuroblastoma cells. *Neurochem Res.* 2000; 25:59-70. doi:10.1023/A:1007587315630  
<http://dx.doi.org/10.1023/A:1007587315630>
130. Peter, T.N.; Irina, A.; Eileen, H.B.; Constantin, B.; Heiko, B.; Nigel, J.C.; Rudolph, J.C.; Barbara, J.C.; Peter, D.; Kelly, D.T.; et al. Correlation of Alzheimer's disease neuropathologic changes with cognitive status: A review of the literature. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2012, 71, 362–381.
131. Avila, J.; Perez, M.; Lucas, J.J.; Gomez-Ramos, A.; Santa Maria, I.; Moreno, F.; Smith, M.; Perry, G.; Hernandez, F. Assembly in vitro of tau protein and its implications in Alzheimer's disease. *Curr. Alzheimer's Res.* 2004, 1, 97–101.
132. Sahara, N.; DeTure, M.; Ren, Y.; Ebrahim, A.S.; Kang, D.; Knight, J.; Volbracht, C.; Pedersen, J.T.; Dickson, D.W.; Yen, S.H.; et al. Characteristics of TBS-extractable hyperphosphorylated Tau species: Aggregation intermediates in rTg4510 mouse brain. *J. Alzheimers Dis.* 2013, 33, 249–263.
133. Lei, P.; Ayton, S.; Finkelstein, D.I.; Spoerri, L.; Ciccotosto, G.D.; Wright, D.K.; Wong, B.X.; Adlard, P.A.; Cherny, R.A.; Lam, L.Q.; et al. Tau deficiency induces parkinsonism with dementia by impairing APP-mediated iron export. *Nat. Med.* 2012, 18, 291–295.
134. Khatoon, S.; Grundke-Iqbal, I.; Iqbal, K. Brain levels of microtubule-associated protein tau are elevated in Alzheimer's disease: A radioimmuno-slot-blot assay for nanograms of the protein. *J. Neurochem.* 1992, 59, 750–753.
135. Khatoon, S.; Grundke-Iqbal, I.; Iqbal, K. Levels of normal and abnormally phosphorylated tau in different cellular and regional compartments of Alzheimer's disease and control brains. *FEBS Lett.* 1994, 351, 80–84.

136. Hanger, D.P.; Betts, J.C.; Loviny, T.L.; Blackstock, W.P.; Anderton, B.H. New phosphorylation sites identified in hyperphosphorylated tau (paired helical filament-tau) from Alzheimer's disease brain using nanoelectrospray mass spectrometry. *J. Neurochem.* 1998, 71, 2465–2476.
137. Hanger, D.P.; Byers, H.L.; Wray, S.; Leung, K.Y.; Saxton, M.J.; Seereeram, A.; Reynolds, C.H.; Ward, M.A.; Anderton, B.H. Novel phosphorylation sites in tau from Alzheimer's brain support a role for casein kinase 1 in disease pathogenesis. *J. Biol. Chem.* 2007, 282, 23645–23654.
138. Hasegawa, M.; Morishima-Kawashima, M.; Takio, K.; Suzuki, M.; Titani, K.; Ihara, Y. Protein sequence and mass spectrometric analyses of tau in the Alzheimer's disease brain. *J. Biol. Chem.* 1992, 267, 17047–1754.
139. Morishima-Kawashima, M.; Hasegawa, M.; Takio, K.; Suzuki, M.; Yoshida, H.; Watanabe, A.; Titani, K.; Ihara, Y. Hyperphosphorylation of tau in PHF. *Neurobiol. Aging* 1995, 16, 365–371.
140. Wang, X.F.; Dong, C.F.; Zhang, J.; Wan, Y.Z.; Li, F.; Huang, Y.X.; Han, L.; Shan, B.; Gao, C.; Han, J.; et al. Human tau protein forms complex with PrP and some GSS- and fCJD-related PrP mutants possess stronger binding activities with tau in vitro. *Mol. Cell. Biochem.* 2008, 310, 49–55.
141. Peng, C.X.; Hu, J.; Liu, D.; Hong, X.P.; Wu, Y.Y.; Zhu, L.Q.; Wang, J.Z. Disease-modified glycogen synthase kinase-3 $\beta$  intervention by melatonin arrests the pathology and memory deficits in an Alzheimer's animal model. *Neurobiol. Aging* 2013, 34, 1555–1563.
142. Liu, S.J.; Wang, J.Z. Alzheimer-like tau phosphorylation induced by wortmannin in vivo and its attenuation by melatonin. *Acta Pharmacol. Sin.* 2002, 23, 183–187.
143. Wang, D.L.; Ling, Z.Q.; Cao, F.Y.; Zhu, L.Q.; Wang, J.Z. Melatonin attenuates isoproterenol-induced protein kinase A overactivation and tau hyperphosphorylation in rat brain. *J. Pineal Res.* 2004, 37, 11–16.
144. Wang, X.C.; Zhang, J.; Yu, X.; Han, L.; Zhou, Z.T.; Zhang, Y.; Wang, J.Z. Prevention of isoproterenol-induced tau hyperphosphorylation by melatonin in the rat. *Acta Pharmacol. Sin.* 2005, 57, 7–12.
145. Yang, X.; Yang, Y.; Fu, Z.; Li, Y.; Feng, J.; Luo, J.; Zhang, Q.; Wang, Q.; Tian, Q. Melatonin ameliorates Alzheimer-like pathological changes and spatial memory retention impairment induced by calyculin A. *J. Psychopharmacol.* 2011, 25, 1118–1125.
146. Avila, J. Tau aggregation into fibrillar polymers: Tauopathies. *FEBS Lett.* 2000, 476, 89–92.
147. Gong, C.X.; Liu, F.; Grundke-Iqbal, I.; Iqbal, K., Post-translational modifications of tau protein in Alzheimer's disease. *J. Neural Transm.* 2005, 112, 813–838.

148. Associa RTHE, Neuromorphological TED, Damage V. Review articles. 2007;5–22.
149. Struble, R.G.; Cork, L.C.; Whitehouse, P.J.; Price, D.L. Cholinergic innervation in neuritic plaques. *Science* 1982, 216, 413–415.
150. Coyle, J.T.; Price, D.L.; DeLong, M.R. Alzheimer's disease: A disorder of cortical cholinergic innervation. *Science* 1983, 219, 1184–1190.
151. Rasool, C.G.; Svendsen, C.N.; Selkoe, D.J. Neurofibrillary degeneration of cholinergic and noncholinergic neurons of the basal forebrain in Alzheimer's disease. *Ann. Neurol.* 1986, 20, 482–488.
152. Samuel, W.; Masliah, E.; Hill, L.R.; Butters, N.; Terry, R. Hippocampal connectivity and Alzheimer's dementia: Effects of synapse loss and tangle frequency in a two-component model. *Neurology* 1994, 44, 2081–2088.
153. Davis, K.L.; Mohs, R.C.; Marin, D.; Purohit, D.P.; Perl, D.P.; Lantz, M.; Austin, G.; Haroutunian, V. Cholinergic markers in elderly patients with early signs of Alzheimer's disease. *J. Am. Med. Assoc.* 1999, 281, 1401–1406.
154. Rinne, J.O.; Laine, M.; Hiltunen, J.; Erkinjuntti, T. Semantic decision making in early probable AD: A PET activation study. *Cogn. Brain Res.* 2003, 18, 89–96.
155. Terry, A.V., Jr.; Buccafusco, J.J. The cholinergic hypothesis of age and Alzheimer's disease-related cognitive deficits: Recent challenges and their implications for novel drug development. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2003, 306, 821–827.
156. Bieschke, J.; Zhang, Q.; Powers, E.T.; Lerner, R.A.; Kelly, J.W. Oxidative metabolites accelerate Alzheimer's amyloidogenesis by a two-step mechanism, eliminating the requirement for nucleation. *Biochemistry* 2005, 44, 4977–4983.
157. Spencer, J.P.; Middleton, L.J.; Davies, C.H. Investigation into the efficacy of the acetylcholinesterase inhibitor, donepezil, and novel procognitive agents to induce gamma oscillations in rat hippocampal slices. *Neuropharmacology* 2010, 59, 437–443.
158. Gueronprez, L.; Ducrocq, C.; Gaudry-Talarmin, Y.M. Inhibition of acetylcholine synthesis and tyrosine nitration induced by peroxynitrite are differentially prevented by antioxidants. *Mol. Pharmacol.* 2001, 60, 838–846.
159. Feng, Z.; Cheng, Y.; Zhang, J.T. Long-term effects of melatonin or 17 beta-estradiol on improving spatial memory performance in cognitively impaired, ovariectomized adult rats. *J. Pineal Res.* 2004, 37, 198–206.
160. Tang, F.; Nag, S.; Shiu, S.Y.; Pang, S.F. The effects of melatonin and Ginkgo biloba extract on memory loss and choline acetyltransferase activities in the brain of rats infused intracerebroventricularly with beta-amyloid 1–40. *Life Sci.* 2002, 71, 2625–2631.

161. Agrawal, R.; Tyagi, E.; Shukla, R.; Nath, C. A study of brain insulin receptors, AChE activity and oxidative stress in rat model of ICV STZ induced dementia. *Neuropharmacology* 2009, 56, 779–787.
162. Fernandez-Bachiller, M.I.; Perez, C.; Campillo, N.E.; Paez, J.A.; Gonzalez-Munoz, G.C.; Usan, P.; Garcia-Palomero, E.; Lopez, M.G.; Villarroya, M.; Garcia, A.G.; et al. Tacrine-melatonin hybrids as multifunctional agents for Alzheimer's disease, with cholinergic, antioxidant, and neuroprotective properties. *ChemMedChem* 2009, 4, 828–841.
163. Spuch, C.; Antequera, D.; Isabel Fernandez-Bachiller, M.; Isabel Rodriguez-Franco, M.; Carro, E. A new tacrine-melatonin hybrid reduces amyloid burden and behavioral deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurotox. Res.* 2010, 17, 421–431.
164. Arends, Y.M.; Duyckaerts, C.; Rozemuller, J.M.; Eikelenboom, P.; Haww, J.J. Microglia, amyloid and dementia in Alzheimer's disease. A correlative study. *Neurobiol. Aging* 2000, 21, 39–47.
165. Combadiere, C.; Feumi, C.; Raoul, W.; Keller, N.; Rodero, M.; Pezard, A.; Lavalette, S.; Houssier, M.; Jonet, L.; Picard, E.; et al. CX3CR1-dependent subretinal microglia cell accumulation is associated with cardinal features of age-related macular degeneration. *J. Clin. Invest.* 2007, 117, 2920–2928.
166. Streit, W.J.; Mrak, R.E.; Griffin, W.S. Microglia and neuroinflammation: A pathological perspective. *J. Neuroinflamm.* 2004, 1. doi:10.1186/1742-2094-1-14.
167. Hardy, J.A.; Higgins, G.A. Alzheimer's disease: The amyloid cascade hypothesis. *Science* 1992, 256, 184–185.
168. Park, S.Y.; Jin, M.L.; Kim, Y.H.; Kim, Y.; Lee, S.J. Anti-inflammatory effects of aromatic-turmerone through blocking of NF-kappaB, JNK, and p38 MAPK signaling pathways in amyloid beta-stimulated microglia. *Int. Immunopharmacol.* 2012, 14, 13–20.
169. Morales G Inelia, Farías G Gonzalo, Maccioni B Ricardo B. La neuroinflamación como factor detonante del desarrollo de la enfermedad de Alzheimer. *Rev. chil. neuro-psiquiatr.* [revista en Internet], 2010  
[http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-92272010000200007&lng=es](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-92272010000200007&lng=es). <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92272010000200007>.
170. Stuchbury, G.; Munch, G. Alzheimer's associated inflammation, potential drug targets and future therapies. *J. Neural. Transm.* 2005, 112, 429–453.
171. Chung, S.Y.; Han, S.H. Melatonin attenuates kainic acid-induced hippocampal neurodegeneration and oxidative stress through microglial inhibition. *J. Pineal Res.* 2003, 34, 95–102.

172. Shen, Y.; Zhang, G.; Liu, L.; Xu, S. Suppressive effects of melatonin on amyloid-beta-induced glial activation in rat hippocampus. *Arch. Med. Res.* 2007, 38, 284–290.
173. Martorana A, Esposito Z, Koch G. Beyond the cholinergic hypothesis: do current drugs work in Alzheimer's disease? *CNS Neurosci Ther.* 2010; 16:235–245.
174. Hansen RA, Gartlehner G, Lohr KN et al. Functional outcomes of drug treatment in Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Drugs Aging.* 2007; 24:155–167.
175. Hayden KM, Zandi PP, Khachaturian AS et al. Does NSAID use modify cognitive trajectories in the elderly? The Cache County study. *Neurology.* 2007; 69:275–282.
176. Breitner JC, Haneuse SJ, Walker R et al. Risk of dementia and AD with prior exposure to NSAIDs in an elderly community-based cohort. *Neurology.* 2009; 72:1899–1905.
177. Spuch C, Antequera D, Isabel Fernandez-Bachiller M et al. A new tacrine-melatonin hybrid reduces amyloid burden and behavioral deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurotox Res* 2010; 17:421–431.
178. Cardinali DP, Brusco LI, Liberczuk C et al. The use of melatonin in Alzheimer's disease. *Neuro Endocrinol Lett* 2002; 23(Suppl 1):20–23.
179. Pappolla MA, Sos M, Omar RA et al. Melatonin prevents death of neuroblastoma cells exposed to the Alzheimer amyloid peptide. *J Neurosci* 1997; 17:1683–1690.
180. Wang XC, Zhang J, Yu X et al. Prevention of isoproterenol induced tau hyperphosphorylation by melatonin in the rat. *Sheng Li Xue Bao* 2005; 57:7–12.
181. Van Rensburg SJ, Daniels WM, Potocnik FC et al. A new model for the pathophysiology of Alzheimer's disease. Aluminium toxicity is exacerbated by hydrogen peroxide and attenuated by an amyloid protein fragment and melatonin. *S Afr Med J* 1997; 87:1111–1115.
182. Yang X, Yang Y, Fu Z et al. Melatonin ameliorates Alzheimer-like pathological changes and spatial memory retention impairment induced by calyculin A. *J Psychopharmacol* 2010; 25:1118–1125.
183. Singer C, Tractenberg RE, Kaye J et al. A multicenter, placebo-controlled trial of melatonin for sleep disturbance in Alzheimer's disease. *Sleep* 2003; 26:893–901.
184. 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.
185. Cardinali, D.P.; Furio, A.M.; Brusco, L.I. Clinical aspects of melatonin intervention in Alzheimer's disease progression. *Curr. Neuropharmacol.* 2010, 8, 218–227.

186. Singhal NK, Srivastava G, Agrawal S, Jain SK, Singh MP. Melatonin as a neuroprotective agent in the rodent models of Parkinson's disease: Is it all set to irrefutable clinical translation? *Mol Neurobiol.* 2012; 45(1):186–99.
187. G. Jean-Louis, F. Zizi, H. von Gizycki and H. Taub: Effects of melatonin in two individuals with Alzheimer's disease. *Percept Mot Skills.* 1998; 87: 331-9. doi:10.2466/pms.1998.87.1.331  
<http://dx.doi.org/10.2466/pms.1998.87.1.331>
188. W. Linert and G. N. Jameson: Redox reactions of neurotransmitters possibly involved in the progression of Parkinson's Disease. *J Inorg Biochem.* 2000; 79:319-26. doi:10.1016/S0162-0134(99)00238-X  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0162-0134\(99\)00238-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0162-0134(99)00238-X)
189. 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.
190. D. B. Calne: The nature of Parkinson's disease. *Neurochem Int.* 1992; 20:15-3S. doi:10.1016/0197-0186(92)90202-3  
[http://dx.doi.org/10.1016/0197-0186\(92\)90202-3](http://dx.doi.org/10.1016/0197-0186(92)90202-3)
191. T. Kitada, S. Asakawa, N. Hattori, H. Matsumine, Y. Yamamura, S. Minoshima, M. Yokochi, Y. Mizuno and N. Shimizu: Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature.* 1998; 392:605-8. doi:10.1038/33416  
<http://dx.doi.org/10.1038/33416>
192. R. Betarbet, T. B. Sherer, G. MacKenzie, M. Garcia-Osuna, A. V. Panov and J. T. Greenamyre: Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nat Neurosci.* 2000; 3:1301-6. doi:10.1038/81834  
<http://dx.doi.org/10.1038/81834>
193. D. Di Monte and C. P. Lawler: Mechanisms of parkinsonism: session X summary and research needs. *Neurotoxicology.* 2001; 22:853-4. doi:10.1016/S0161-813X(01)00086-9  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0161-813X\(01\)00086-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0161-813X(01)00086-9)
194. M. A. Collins and E. J. Neafsey: Potential neurotoxic "agents provocateurs" in Parkinson's disease. *Neurotoxicol Teratol.* 2002; 24:571-7. doi:10.1016/S0892-0362(02)00210-6  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0892-0362\(02\)00210-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0892-0362(02)00210-6)
195. S. Fahn and G. Cohen: The oxidant stress hypothesis in Parkinson's disease: evidence supporting it. *Ann Neurol.* 1992; 32:804-12. doi:10.1002/ana.410320616  
<http://dx.doi.org/10.1002/ana.410320616>
196. C. W. Olanow: Oxidation reactions in Parkinson's disease. *Neurology.* 1990; 40:discussion 37-9.

197. Z. I. Alam, A. Jenner, S. E. Daniel, A. J. Lees, N. Cairns, C. D. Marsden, P. Jenner and B. Halliwell: Oxidative DNA damage in the parkinsonian brain: an apparent selective increase in 8-hydroxyguanine levels in substantia nigra. *J Neurochem.* 1997;69:1196-203. doi:10.1046/j.1471-4159.1997.69031196.x  
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1471-4159.1997.69031196.x>
198. D. T. Dexter, C. J. Carter, F. R. Wells, F. Javoy-Agid, Y. Agid, A. Lees, P. Jenner and C. D. Marsden: Basal lipid peroxidation in substantia nigra is increased in Parkinson's disease. *J Neurochem.* 1989; 52:381-9. doi:10.1111/j.1471-4159.1989.tb09133.x  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-4159.1989.tb09133.x>
199. T. L. Perry and V. W. Yong: Idiopathic Parkinson's disease, progressive supranuclear palsy and glutathione metabolism in the substantia nigra of patients. *Neurosci Lett.* 1986;67:269-74. doi:10.1016/0304-3940(86)90320-4  
[http://dx.doi.org/10.1016/0304-3940\(86\)90320-4](http://dx.doi.org/10.1016/0304-3940(86)90320-4)
200. P. Hantraye, M. Varastet, M. Peschanski, D. Riche, P. Cesaro, J. C. Willer and M. Maziere: Stable parkinsonian syndrome and uneven loss of striatal dopamine fibres following chronic MPTP administration in baboons. *Neuroscience.* 1993; 53:169-78. doi:10.1016/0306-4522(93)90295-Q  
[http://dx.doi.org/10.1016/0306-4522\(93\)90295-Q](http://dx.doi.org/10.1016/0306-4522(93)90295-Q)
201. L. J. Chen, Y. Q. Gao, X. J. Li, D. H. Shen and F. Y. Sun: Melatonin protects against MPTP/MPP+ -induced mitochondrial DNA oxidative damage in vivo and in vitro. *J Pineal Res.* 2005; 39:34-42. doi:10.1111/j.1600-079X.2005.00209.x  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-079X.2005.00209.x>
202. F. Dabbeni-Sala, S. Di Santo, D. Franceschini, S. D. Skaper and P. Giusti: Melatonin protects against 6-OHDA-induced neurotoxicity in rats: a role for mitochondrial complex I activity. *FASEB J.* 2001; 15:164-170. doi:10.1096/fj.00-0129com  
<http://dx.doi.org/10.1096/fj.00-0129com>
203. J. C. Mayo, R. M. Sainz, H. Uria, I. Antolin, M. M. Esteban and Rodriguez: Inhibition of cell proliferation: a mechanism likely to mediate the prevention of neuronal cell death by melatonin. *J Pineal Res.* 1998; 25:12-8. doi:10.1111/j.1600-079X.1998.tb00380.x  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-079X.1998.tb00380.x>
204. H. A. Hanagasi, D. Ayribas, K. Baysal and M. Emre: Mitochondrial complex I, II/III, and IV activities in familial and sporadic Parkinson's disease. *Int J Neurosci.* 2005; 115:479-93. doi:10.1080/00207450590523017  
<http://dx.doi.org/10.1080/00207450590523017>
205. D. Alvira, M. Tajés, E. Verdaguer, D. Acuna-Castroviejo, J. Folch, A. Camins and M. Pallas: Inhibition of the cdk5/p25 fragment formation may explain the antiapoptotic effects of melatonin in an experimental model of Parkinson's disease. *J Pineal Res.* 2006; 40:251-8. doi:10.1111/j.1600-079X.2005.00308.x  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-079X.2005.00308.x>

206. M. Kitazawa, S. Oddo, T. R. Yamasaki, K. N. Green and F. M. LaFerla: Lipopolysaccharide-induced inflammation exacerbates tau pathology by a cyclin-dependent kinase 5-mediated pathway in a transgenic model of Alzheimer's disease. *J Neurosci.* 2005; 25:8843-53. doi:10.1523/JNEUROSCI.2868-05.2005  
<http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2868-05.2005>
207. R. Bordet, D. Devos, S. Brique, Y. Touitou, J. D. Guieu, C. Libersa and A. Destee: Study of circadian melatonin secretion pattern at different stages of Parkinson's disease. *Clin Neuropharmacol.* 2003; 26:65-72. doi:10.1097/00002826-200303000-00005  
<http://dx.doi.org/10.1097/00002826-200303000-00005>
208. R. J. Hughes, R. L. Sack and A. J. Lewy: The role of melatonin and circadian phase in age-related sleep-maintenance insomnia: assessment in a clinical trial of melatonin replacement. *Sleep.* 1998; 21:52-68.
209. K. Mishima, M. Okawa, T. Shimizu and Y. Hishikawa: Diminished melatonin secretion in the elderly caused by insufficient environmental illumination. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86:129-34. doi:10.1210/jc.86.1.129  
<http://dx.doi.org/10.1210/jc.86.1.129>
210. C. A. Ross, and S. J. Tabrizi: Huntington's disease: from molecular pathogenesis to clinical treatment. *Lancet Neurol.* 2001; 10:83-98. doi:10.1016/S1474-4422(10)70245-3  
[http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70245-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70245-3)
211. F. O. Walker: Huntington's disease. *Lancet.* 2007; 369:218-28. doi:10.1016/S0140-6736(07)60111-1  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60111-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60111-1)
212. A. J. Tobin and E. R. Signer: Huntington's disease: the challenge for cell biologists. *Trends Cell Biol.* 2000; 10:531-6. doi:10.1016/S0962-8924(00)01853-5  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0962-8924\(00\)01853-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0962-8924(00)01853-5)
213. I. Arnulf, J. Nielsen, E. Lohmann, J. Schiefer, E. Wild, P. Jennum, E. Konofal, M. Walker, D. Oudiette, S. Tabrizi and A. Durr: Rapid eye movement sleep disturbances in Huntington disease. *Arch Neurol.* 2008; 65:482-8. doi:10.1001/archneur.65.4.482  
<http://dx.doi.org/10.1001/archneur.65.4.482>
214. M. Bjorkqvist, E. J. Wild, J. Thiele, A. Silvestroni, R. Andre, N. Lahiri, E. Raibon, R. V. Lee, C. L. Benn, D. Soulet, A. Magnusson, B. Woodman, C. Landles, M. A. Pouladi, M. R. Hayden, A. Khalili-Shirazi, M. W. Lowdell, P. Brundin, G. P. Bates, B. R. Leavitt, T. Moller and S. J. Tabrizi: A novel pathogenic pathway of immune activation detectable before clinical onset in Huntington's disease. *J Exp Med.* 2008;205:1869-77. doi:10.1084/jem.20080178  
<http://dx.doi.org/10.1084/jem.20080178>

215. Barquero MS, Gómez E. Transtornos cognitivos en pacientes con enfermedad de Huntington. Uinet.edu [on line].
216. J. M. van der Burg, M. Bjorkqvist and P. Brundin: Beyond the brain: widespread pathology in Huntington's disease. *Lancet Neurol.* 2009; 8:765-74. doi:10.1016/S1474-4422(09)70178-4  
[http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70178-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70178-4)
217. J. P. Vonsattel: Huntington disease models and human neuropathology: similarities and differences. *Acta Neuropathol.* 2008; 115:55-69. doi:10.1007/s00401-007-0306-6  
<http://dx.doi.org/10.1007/s00401-007-0306-6>
218. Aziz NA, Pijl H, Frolich M, Schroder-van der Elst JP, van der BC, Roelfsema F, Roos RA (2009) Delayed onset of the diurnal melatonin rise in patients with Huntington's disease. *J Neurol* 256:1961–1965.
219. Oliveira JM (2010) Nature and cause of mitochondrial dysfunction in Huntington's disease: focusing on huntingtin and the striatum. *J Neurochem* 114:1–12.
220. 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 (2011) The melatonin MT1 receptor axis modulates mutant Huntingtin-mediated toxicity. *J Neurosci* 31:14496–14507.
221. Heiser V, Scherzinger E, Boeddrich A, Nordhoff E, Lurz R, Schugardt N, Lehrach H, Wanker EE (2000) Inhibition of huntingtin fibrillogenesis by specific antibodies and small molecules: implications for Huntington's disease therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 9.
222. Jacob S, Poeggeler B, Weishaupt JH, Siren AL, Hardeland R, Bahr M, Ehrenreich H. Melatonin as a candidate compound for neuroprotection in amyotrophic lateral sclerosis (ALS): High tolerability of daily oral melatonin administration in ALS patients. *J Pineal Res* 2002;33:186–187.
223. Weishaupt JH, Bartels C, Poling E et al. Reduced oxidative damage in ALS by high-dose enteral melatonin treatment. *J Pineal Res* 2006; 41: 313-323.

## **10. AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer a Dña. Noemí Rueda Revilla su colaboración y tutorización de este trabajo.

Igualmente, agradecer a mis padres, Jorge y Esther, el gran esfuerzo realizado que ha hecho posible que pudiera llegar al final de esta etapa y a Pablo, por su apoyo incansable en todo momento.

