

TRABAJOS DE INVESTIGACION

Melatonina: del conocimiento básico a la aplicación clínica en psiquiatría

Gloria Benítez-King*

Summary

Melatonin (5-methoxy-N-acetyltryptamine) is a pineal secreted hormone during the night. The hormone conveys photoperiodic information and synchronizes the biological activity with the dark-light cycle. Altered levels of melatonin in both psychiatric and neurodegenerative illnesses such as major depression, schizophrenia, obsessive-compulsive disorder, Alzheimer disease, Parkinson disease, etc. have been described. However, the role of melatonin in the etiology of these mental illnesses is unknown. On the other hand, melatonin acts as a neuromodulator. It inhibits dopamine release from the hypothalamus and the retina; it inhibits serotonin uptake and increases serotonin and GABA concentrations in both the mesencephalon and the hypothalamus. The molecular event underlying the neuromodulator actions of melatonin are unknown. However, up to this date, four mechanisms of action have been described that could partly explain the effects of melatonin on neurotransmission. This hormone binds to membranal receptors at specific brain areas, and to nuclear receptors, acts as a free radical scavenger and interacts with both calmodulin and protein kinase C. Two calcium binding proteins involved in axoplasmic transport, neurotransmitter release, neuronal plasticity, cytoskeletal rearrangements, etc. Despite all this information, more experimental work is needed to understand the molecular mechanisms underlying the effects of melatonin on neurotransmission and to predict its therapeutic effects on mental diseases.

Key word: Melatonin, protein kinase C, calmodulin, mechanism of action.

Resumen

La melatonina es una hormona que se sintetiza durante la noche en la glándula pineal. Su función principal es la de actuar como un cronobiótico ya que sincroniza la actividad interna del organismo con el ciclo luz-oscuridad. A la fecha, la evidencia acumulada indica que los niveles de melatonina están alterados en algunas enfermedades psiquiátricas y neurodegenerativas tales como la depresión mayor, la esquizofrenia, el trastorno obsesivo compulsivo, la enfermedad de Alzheimer, la esclerosis múltiple, la enfermedad de Parkinson y la epilepsia. En escasos estudios se ha sugerido que algunos pacientes que presentan estas enfermedades muestran una mejoría clínica al ser tratados con melatonina. Sin embargo, hasta ahora no se sabe si la hormona está

involucrada en la fisiopatología de estas enfermedades. Se ha descrito que la melatonina actúa como un neuromodulador. En el hipotálamo inhibe la recaptura de la serotonina, y en el mesencéfalo y en el hipotálamo de la rata aumenta la concentración de este neurotransmisor. También se ha descrito que inhibe la liberación de la dopamina y de la acetilcolina en el hipotálamo y en la retina. Los mecanismos moleculares que subyacen a la acción neuromoduladora de la melatonina no se conocen con exactitud. Se han descrito cuatro mecanismos de acción de la hormona que podrían explicar algunos de sus efectos sobre la neurotransmisión. La melatonina se une a los receptores membranales localizados en áreas específicas del cerebro; también se une a las proteínas nucleares que podrían modular la expresión génica; actúa como un captador de radicales libres y, por lo tanto, como un protector del daño tisular que se presenta en las enfermedades neurodegenerativas. Finalmente, interacciona con la calmodulina y la proteína quinasa C en presencia de calcio. Estas dos proteínas modulan procesos tales como el transporte axoplásmico, la liberación de neurotransmisores, la plasticidad neuronal y el arreglo del citoesqueleto. A pesar de esta información, se requiere de más estudios básicos que permitan conocer con exactitud los mecanismos moleculares que subyacen a estas respuestas, para poder predecir la utilidad de la hormona en el tratamiento de las enfermedades psiquiátricas y neurodegenerativas.

Palabras clave: Melatonina, calmodulina, proteína quinasa C, mecanismo de acción.

Introducción

Existen registros que indican que el hombre reconoció la existencia de la glándula pineal desde la antigüedad. Las primeras referencias de las que se tienen noticias son de la cultura hindú y se remontan a 2000 años a.C. Los hindúes consideraban a la glándula pineal como el tercer ojo y le atribuían la función de la clarividencia (33,34). Más tarde, debido a la posición anatómica de la glándula, los griegos creyeron que su función era la de regular el flujo de los espíritus animales por medio de los ventrículos cerebrales (33,34). Los espíritus animales eran considerados el sustrato para el desarrollo del conocimiento. También los griegos antiguos consideraron a la glándula pineal como el asiento del alma, concepto que fue extendido por Descartes en el siglo XVII. Este filósofo consideró a la glándula pineal como una estructura cerebral impar que vinculaba el alma con las funciones somáticas, y muchos

* Instituto Mexicano de Psiquiatría, Departamento de Neurofarmacología. División de Investigaciones Clínicas, Calz. México-Xochimilco 101, San Lorenzo-Huipulco 14370, México, D.F.

científicos de ese siglo la relacionaron con la locura (33,34). Esta idea fue probada por Becker en 1920, quien administró extractos de glándula pineal con fines terapéuticos a los enfermos psicóticos (11).

En 1958 se inició la etapa actual del conocimiento acerca de la glándula pineal y de la melatonina, que es la hormona principal que produce esta glándula. Lerner, un dermatólogo interesado en encontrar una cura para el vitiligo, aisló la melatonina a partir de 40 000 glándulas pineales de bovino (35). Basándose en las experiencias obtenidas por Mc Cord y Allen, en 1936, identificó a la N-acetil-5-metoxitriptamina como el factor que induce la contracción de los melanóforos y el aclaramiento de la piel de los batracios (35). Lerner la nombró *melatonina* debido a que actúa sobre las células que producen el pigmento *melanina* y *tonina* por ser un compuesto derivado de la serotonina (35). La hormona resultó inútil para el tratamiento del vitiligo, sin embargo su identificación y aislamiento la hizo accesible a la comunidad científica y permitió desarrollar el conocimiento de la fisiología de la glándula pineal y de la melatonina.

En la actualidad se sabe que la melatonina se sintetiza durante la noche en la glándula pineal de los vertebrados superiores (46) y en los órganos pineales de los vertebrados inferiores (19); también en las plantas y en los organismos unicelulares (8,28,29). La glándula pineal de los mamíferos se han considerado como un "transductor neuroendócrino" (9,58) por que los pinealocitos reciben información de tipo nervioso, la cuál, una vez decifrada, se traduce en la producción de melatonina. Esta hormona actúa como la señal química de la oscuridad. Se sintetiza durante la noche en respuesta a las condiciones ambientales de luz-oscuridad percibidas por la retina, que por vía noradrenérgica se transmite a los pinealocitos (46). La síntesis y liberación de la hormona es circádica y su biosíntesis se inicia a partir del triptofano circulante captado por los pinealocitos. Este aminoácido es hidroxilado en la posición cinco del anillo indólico, por la triptofano hidroxilasa, formando el 5-hidroxitriptofano, que al ser descarboxilado en la cadena lateral forma la 5-hidroxitriptamina o serotonina. En la glándula pineal, la serotonina es el precursor de la melatonina. Primero, la N-acetiltransferasa transfiere un grupo acetilo de la acetil-coenzima A a la serotonina para formar la N-acetilserotonina, y después, este compuesto es transformado en 5-metoxitriptamina o melatonina por la acción de la hidroxil-indol-O-metiltransferasa (46).

La melatonina sintetizada por la glándula pineal se vierte directamente a la circulación general (47). La hormona, por ser un compuesto lipofílico, se distribuye de manera sistémica a todos los tejidos. En el hígado se metaboliza por medio de dos transformaciones enzimáticas. Primero es hidroxilada en la posición seis del anillo indólico y, posteriormente, es conjugada a un grupo sulfato o a un grupo glucurónido. Tanto la 6-sulfatoximelatonina como el glucurónido de la 6-hidroximelatonina son excretadas por la orina. En el cerebro puede ser metabolizada una pequeña cantidad de melatonina a N-acetil-N-formil-5-metoxikinurenina o a N-acetil-5-metoxikinurenina (5).

Actualmente sabemos que la melatonina también puede ser sintetizada en otros tejidos tales como las

células de la retina y del intestino (32). Además de que es una molécula conservada a lo largo de la evolución (29) y de que sus niveles circulantes en plasma constituyen una señal acoplada a la oscuridad ambiental (46), su función principal es la de actuar como un cronobiótico endógeno que sincroniza los ritmos biológicos al fotoperíodo. Dado que el ciclo luz-oscuridad varía con las estaciones del año, se acepta que esta hormona actúa, a la vez, como un reloj circadiano y como un calendario que informa al medio interno de las condiciones ambientales externas (47). En el ser humano, la melatonina regula varios ritmos circadianos, como el de la vigilia-sueño, los niveles de cortisol, la temperatura corporal y el ciclo de secreción de la propia melatonina (19).

La melatonina: conocimientos básicos

Durante muchos años se consideró que el principal órgano blanco de la melatonina era el cerebro (1). Ahora se sabe que la hormona, además de actuar sobre el Sistema Nervioso Central, también actúa en tejidos periféricos. La melatonina actúa en el cerebro como un neuromodulador. Se sabe que esta indolamina regula la recaptura, la liberación y la síntesis de varios neurotransmisores en diferentes regiones del cerebro de los mamíferos y de las aves. En el mesencéfalo de la rata aumenta la concentración de serotonina (2), en tanto que en el hipotálamo de las ratas pinealectomizadas, tratadas con melatonina, inhibe o aumenta la recaptura y la liberación de este neurotransmisor, dependiendo de las condiciones experimentales (17,41). Además de la serotonina, se ha descrito que la melatonina modula la transmisión dopaminérgica y colinérgica. En la retina y en el hipotálamo, la hormona inhibe la liberación de dopamina y de acetilcolina inducida por concentraciones altas de potasio o por estimulación eléctrica (23, 42,59). Hay una clara evidencia de que la melatonina también modifica la actividad del sistema gabaérgico y glutamatergico. En el mesencéfalo y en el hipotálamo de la rata, la hormona aumenta la concentración de GABA (2,50) y la unión de este neurotransmisor a su receptor (21). Además, en los sinaptosomas obtenidos del hipotálamo de la rata disminuye la captura de glutamato (17). Estos resultados apoyan que la melatonina es un cronobiótico que actúa sincronizando la actividad neuronal con el ciclo luz-oscuridad.

No se conoce con exactitud el mecanismo de acción que subyace al efecto neuromodulador de la melatonina. El hecho de que se hayan encontrado receptores de alta afinidad a la melatonina, distribuidos en las regiones cerebrales donde se han observado efectos de esta indolamina sobre la neurotransmisión (55), así como los estudios acerca de los efectos de agonistas y antagonistas de la melatonina sobre la unión de la hormona radiactiva y sobre la liberación de dopamina, han sugerido que los receptores específicos localizados en la membrana plasmática podrían intervenir en estas respuestas (23,24). Sin embargo, a pesar de esta información no se conoce con exactitud la cascada de eventos moleculares que ocurren desde la estimulación del receptor por melatonina hasta la obtención de la respuesta neuromoduladora. Hasta ahora se han des-

critos dos tipos de receptores a melatonina que se distinguen por sus características farmacológicas y cinéticas (24): los ML1 descritos originalmente en la retina del pollo y del conejo, que tienen afinidad picomolar, y los ML2 descritos en el cerebro del hamster, que tienen afinidad nanomolar (24). Recientemente se logró clonar una familia de receptores a melatonina acoplados a proteínas G con técnicas de biología molecular. Se han identificado dos subtipos de receptores: el ML1a y el ML1b, que se han identificado en los mamíferos (49). El gene del ML 1a se expresa en las áreas del cerebro en las que previamente se había reportado la unión de melatonina radiactiva; en cambio, el ML1b no se ha detectado en el cerebro de varias especies por métodos convencionales, y fue posible detectar su expresión en la retina y en el cerebro por la reacción en cadena de la polimerasa inversa (38).

Además de la unión de la melatonina a receptores membranales específicos, también se han descrito otros mecanismos de acción que podrían intervenir en el efecto neuromodulador de la hormona. Uno de ellos es la unión de esta hormona a receptores nucleares, que podría actuar como una señal y generar la expresión de genes específicos que codifican a las enzimas responsables de la síntesis de los neurotransmisores (18). Otro mecanismo que interviene podría ser la unión de la melatonina a la calmodulina (15) y a la proteína cinasa C (4), que son moléculas activadas por calcio. La melatonina se une con alta afinidad (180 pM) a la calmodulina. Esta unión es saturable, reversible y dependiente de calcio (15). Por otro lado, se ha demostrado que la hormona activa a la proteína cinasa C con una EC₅₀ de 1 nM (4) tanto *in vitro* como en las células en cultivo del neuroblastoma. La activación de esta enzima por la melatonina también es dependiente de calcio.

La fosforilación de proteínas neuronales por la proteína cinasa C y por cinasas activadas por calmodulina (en particular la multiproteína cinasa II dependiente de calmodulina) desempeñan un papel crucial en la modulación de la liberación y en el metabolismo de los neurotransmisores en el Sistema Nervioso Central (10,25,53). Hay evidencias que indican que las concentraciones fisiológicas de melatonina (1 nM) inhiben la actividad y la autofosforilación de la multiproteína cinasa II dependiente de calmodulina (16). Esta inhibición se debe a que la hormona antagoniza la actividad de esta proteína en presencia de calcio. La unión melatonina-calmodulina impide que la proteína active a la proteína cinasa II y, por lo tanto, bloquea la fosforilación de las proteínas que intervienen tanto en el proceso de la síntesis como de la liberación de los neurotransmisores (10,16,25). Además de este efecto antagonista, la melatonina activa directamente a la proteína cinasa C (4) que, a su vez, fosforila los sustratos que intervienen en el metabolismo y en la liberación de varios neurotransmisores, así como en la plasticidad neuronal (37). Recientemente se demostró una preparación de sinaptosomas obtenidos del hipotálamo de la rata, que la melatonina inhibe la liberación basal de la dopamina y la fosforilación de 4 proteínas sinaptosomales en condiciones basales y en condiciones de liberación de neurotransmisores, evocada por potasio (30). Esta evidencia sugiere que la hormona podría aco-

plar la neurotransmisión dopaminérgica al fotoperíodo modulando la fosforilación de proteínas, y por medio de este mecanismo, sincronizar la actividad neuronal con el ciclo luz-oscuridad. Además de la modulación de la fosforilación de proteínas por la melatonina, se ha descrito que esta hormona induce la formación de neuritas en las células del neuroblastoma por medio del antagonismo de la calmodulina y a través del alargamiento de los microtúbulos (31). Este mecanismo podría participar en los fenómenos de plasticidad neuronal, favoreciendo las conexiones interneuronales (13,14).

Aun cuando no está directamente relacionado con los mecanismos que participan en los efectos neuromoduladores de la melatonina, es importante mencionar que a concentraciones farmacológicas, la hormona actúa como un captador de radicales libres (48). Se sabe que en el envejecimiento y en las enfermedades neurodegenerativas se genera una gran cantidad de radicales libres que dañan el tejido cerebral. Se ha demostrado que la melatonina protege las macromoléculas, en particular el DNA, del deterioro causado por los radicales libres. Además de captar los radicales de hidroxilo altamente tóxicos para el tejido neuronal, la melatonina también promueve la actividad de enzimas antioxidantes, como la glutatión peroxidasa, reduciendo el daño tisular causado por la oxidación (48).

La melatonina y las enfermedades psiquiátricas y neurodegenerativas

De la evidencia obtenida hasta ahora acerca de la melatonina y las enfermedades psiquiátricas y neurodegenerativas, resaltan dos hechos fundamentales. Primero: que los niveles de melatonina están alterados en muchas de estas enfermedades. Segundo: que los pacientes con trastornos psiquiátricos o neurodegenerativos tratados con melatonina muestran una clara mejoría clínica.

En 1985, Beck-Friis y colaboradores describieron el "síndrome de melatonina disminuida" en los pacientes con depresión (12). Este síndrome se caracteriza por una secreción de melatonina disminuida acompañada de una desorganización en el ritmo de secreción del cortisol (12). Claustat describió un año antes que la secreción de melatonina está disminuida en los pacientes con depresión mayor (20). Los pacientes maniaco-depresivos también muestran cambios en los niveles de melatonina con desfases en su ritmo de secreción. Durante los episodios de manía muestran altos niveles de la hormona, en tanto que en los episodios de depresión, los niveles están disminuidos, regresando a valores semejantes a los de los controles durante los periodos de eutimia (36). Recientemente se indicó que los niveles de la hormona disminuyen en los pacientes esquizofrénicos, en los obsesivo compulsivos (44), en los que padecen de insomnio crónico (27), en los que presentan la enfermedad de Alzheimer (39,56) y en los que tienen esclerosis múltiple (51,52).

Aun cuando no se ha podido establecer la correlación directa entre la disfunción de la secreción de melatonina y la patofisiología de las enfermedades psiquiátricas y neurodegenerativas, la administración de melatonina

a este tipo de pacientes ha demostrado que la hormona tiene eficacia terapéutica. En 1971, Antón-Tay y colaboradores publicaron uno de los primeros estudios clínicos sobre la utilidad terapéutica de la melatonina en los seres humanos (3). En este estudio se demostró por primera vez que la melatonina induce el sueño y un estado de bienestar o elación. Posteriormente, en estudios controlados doble-ciego y con placebo, se demostró que la hormona acorta la latencia del sueño y es eficaz en el tratamiento del insomnio (7,26), en las disritmias causadas por los vuelos intercontinentales (síndrome del *jet-lag*) (7,22), en el insomnio que se presenta en los pacientes de la tercera edad (7,26), en el síndrome de mala adaptación de los trabajadores nocturnos (6) y en los trastornos de sueño relacionados con la enfermedad de Alzheimer (54). Además, la supresión de la síntesis de melatonina por fototerapia es eficaz en el tratamiento de los pacientes que presentan el síndrome de depresión estacional (57). Por último, también se ha descrito que la melatonina causa una mejoría clínica en la enfermedad de Parkinson (40) y en la de Alzheimer (39), así como en la esclerosis múltiple (52,53) y que actúa como anticonvulsivante en los enfermos con epilepsia mioclónica y del lóbulo temporal (3,43).

Conclusiones

Las evidencias existentes hasta ahora indican que algunas enfermedades psiquiátricas y neurodegenerativas cursan con niveles alterados de melatonina, y sugieren que la hormona podría intervenir en la patofisiología de estas enfermedades al actuar como un modulador de la neurotransmisión. Se han descrito cuatro mecanismos de acción que podrían explicar, en parte, el efecto protector de la hormona en las enfermedades neurodegenerativas, y sus efectos moduladores en la transmisión sináptica. A pesar de esta información, se requiere de más estudios básicos que permitan conocer con exactitud los mecanismos moleculares que subyacen a estas respuestas para poder predecir la utilidad de la hormona en el tratamiento de las enfermedades psiquiátricas y neurodegenerativas.

Agradecimientos

Parte de los resultados mencionados en esta revisión fueron obtenidos con el apoyo del donativo No 3220P-N9607 de CONACYT, México.

REFERENCIAS

1. ANTON-TAY F: Melatonin effects on brain function. *Adv Biochem Psycho*, 11:315-324, 1974.
2. ANTON-TAY F, CHOU C, ANTON S, WURTMAN RJ: Brain serotonin concentration: Elevation following intraperitoneal administration of melatonin. *Science*, 162:277-278, 1968.
3. ANTON-TAY F, DIAZ L, FERNANDEZ-GUARDIOLA A: On the effect of melatonin upon human brain: Its possible therapeutic implications. *Life Sci*, 10:841-850, 1971.
4. ANTON-TAY F, RAMIREZ G, MARTINEZ I, BENITEZ-KING G: In vitro stimulation of protein kinase C by melatonin. *Neurochem Res*, 23:605-610, 1998.
5. ARENDT J (ed): *Melatonin and the Mammalian Pineal Gland*. Chapman & Hall, Londres, 1995.
6. ARENDT J, DEACON S, ENGLISH J, HAMPTON S, MORGAN L: Melatonin and adjustment to phase shift. *J Sleep Res* (4 Supl) 2:74-79, 1995.
7. ARMSTRONG SM: Treatment of sleep disorders by melatonin administration. *Adv Pineal Res*, 6:263-274, 1991.
8. ARNOLD JD, BERGER AE, MARTIN DC: Chemical agents effective in mediating control of growth and division synchrony of plasmodium berghei in pinealectomized mice. *J Parasitol*, 55:617-625, 1969.
9. AXELROD J: The pineal gland a neurochemical transducer. *Science*, 184:1341-1348, 1974.
10. BAHLER M, GREENGARD P: Synapsin I bundles F-actin in a phosphorylation-dependent manner. *Nature*, 326:704-707, 1987.
11. BECKER WJ: Epiglandol bei dementia praecox. *Therapeut Halbmonatscher*, 4:667-668, 1920.
12. BECK-FRIIS J, KJELLMAN BF, APERIA B, UNDEN F, VON ROSEN D, LJUNGGREN JG, WETTEBERG L: Serum melatonin in relation to clinical variables in patients with major depressive disorders: A hypothesis of a low melatonin syndrome. *Acta Psychiatr Scand*, 71:319-330, 1985.
13. BENITEZ-KING G, ANTON-TAY F: Calmodulin mediates melatonin cytoskeletal effects. *Experientia*, 49:635-641, 1993.
14. BENITEZ-KING G, ANTON-TAY F: Role of melatonin in cytoskeletal remodeling is mediated by calmodulin and protein kinase C. *Front Horm Res*, 21:154-159, 1996.
15. BENITEZ-KING G, HUERTO-DELGADILLO L, ANTON-TAY F: Binding of ^3H -melatonin to calmodulin. *Life Sci*, 53:201-207, 1993.
16. BENITEZ-KING G, RIOS A, MARTINEZ A, ANTON-TAY F: In vitro inhibition of Ca^{2+} /Calmodulin-dependent kinase II activity by melatonin. *Biochem Biophys Acta*, 1290:191-196, 1996.
17. CARDINALI DP, NAGLE CA, FREIRE F, ROSNER JM: Effects of melatonin on neurotransmitter uptake and release by synaptosome-rich homogenates of the rat hypothalamus. *Neuroendocrinology*, 18:72-85, 1975.
18. CARLBERG C, WIESENBERG I: The orphan receptor family RZR/ROR melatonin and 5-lipoxygenase: an unexpected relationship. *J Pineal Res*, 18:171-178, 1995.
19. CASSONE VM: Effects of melatonin on vertebrate circadian systems. *Trends Neurosci*, 13:457-463, 1990.
20. CLAUSTRAT B, CHAZOT G, BRUN J, JORDAN D, SASSOLAS G: A chronobiological study of melatonin and cortisol secretion in depressed subjects: Plasma melatonin, a biochemical marker in major depression. *Biol Psychiatry*, 19:1215-1228, 1984.
21. COLOMA FM, NILES LP: Melatonin enhancement of ^3H GABA and ^3H -Muscimol binding in rat brain. *Biochem Pharmacol*, 37:1271-1274, 1988.
22. DAWSON D, ENCEL N: Melatonin and sleep in humans. *J Pineal Res*, 15:1-12, 1993.
23. DUBOCOVICH ML: Melatonin a potent modulator of dopamine release in the retina. *Nature*, 306:782-784, 1983.
24. DUBOCOVICH ML: Melatonin receptors: Are there multiple subtypes? *Tips*, 16:49-56, 1995.
25. DUNKLEY PR: Autophosphorylation of neuronal calcium/calmodulin-stimulated protein kinase II. *Molec Neurobiol*, 5:179-202, 1991.
26. HAIMOV I, LAVIE P: Potential of melatonin replacement therapy in older patients with sleep disorders. *Drugs Aging*, 2:75-8, 1995.
27. HAJAK G, RODENBECK A, STAEDT J, BANDELOW B, HUETHER G, RÜTHER E: Nocturnal plasma melatonin levels in patients suffering from chronic primary insomnia. *J Pineal Res*, 19:116-122, 1995.

28. HARDELAND R: The presence and function of melatonin and structurally related indolamines in a dinoflagellate, and hypothesis on the evolutionary significance of these tryptophan metabolites in unicellulars. *Experientia*, 49:614-622, 1993.
29. HARDELAND R, FUHRBERG B: Ubiquitous melatonin - presence and effects in unicells, plants and animals. *Trends Comp Biochem Physiol*, 2:25-45, 1996.
30. HERNANDEZ ME, GALICIA L, ANTON-TAY F, BENITEZ-KING G: El efecto de la melatonina sobre la fosforilación de proteínas en una preparación de sinaptosomas de hipotálamo de la rata. *Salud Mental*, 21:19-23, 1998.
31. HUERTO-DELGADILLO L, ANTON-TAY F, BENITEZ-KING G: Effects of melatonin on microtubule assembly depend on hormone concentration: Role of melatonin as a calmodulin antagonist. *J Pineal Res*, 17:55-62, 1994.
32. HUETHER G: The contribution of extrapineal sites of melatonin synthesis to circulating melatonin levels in higher vertebrates. *Experientia*, 49:665-670, 1993.
33. KAPPERS JA, SHADE JP: *Structure and function of Epiphysis Cerebri*. Elsevier, Amsterdam, 1965.
34. KAPPERS JA: Themammalian pineal organ. *J Neurovic Relat Suppl*, XI:140, 1969.
35. LERNER AB, CASE JD, TAKAHASHI Y, LEE TH, MORE W: Isolation of melatonin, the pineal factor that lightens melanocytes. *J Am Chem Soc*, 80:2587, 1958.
36. LEWY AJ, WEHR TA, GOLD PW, GOODWIN FK: Plasma melatonin in manic-depressive illness. En: Usdin E, Kopin IJ, Barchas J (eds). *Catecholamines: Basic and Clinical Frontiers*, Vol II, Pergamon Press, 1173-1175, Oxford, 1979.
37. LIU JP: Protein kinase C and its substrates. *Mol Cell Endocr*, 116:1-29, 1996.
38. LIU C, WEAVER DR, JIN X, SHEARMAN LP, PIESCHI RL, GRIBKOFF VK, REPPERT SM: Molecular dissection of two distinct actions of melatonin on the suprachiasmatic circadian clock. *Neuron*, 19:91-102, 1997.
39. MAURIZI CP: The mystery of Alzheimer's disease and its prevention by melatonin. *Med Hypotheses*, 45:339-340, 1995.
40. MAYO JC, SAINZ RM, URIA H, ANTOLIN I, ESTEBAN MM, RODRIGUEZ C: Melatonin prevents apoptosis induced by 6-hydroxydopamine in neuronal cells: implications for Parkinson's disease. *J Pineal Res*, 24:179-192, 1998.
41. MIGUEZ JM, MARTIN FJ, ALGUNDE M: Effects of pinealectomy and melatonin treatments on serotonin uptake and release from synaptosomes of rat hypothalamic regions. *Neurochem Res*, 20:1127-1132, 1995.
42. MITCHELL CK, REDBURN DA: Melatonin inhibits Ach release from rabbit retina. *Visual Neurosci*, 7:479-486, 1991.
43. MOLINA-CARBALLO A, MUÑOZ-HOYOSA, REITER RJ, SANCHEZ-FORTE M, MORENO-MADRID F, RUFO-CAMPOS M, MOLINA-FONT JA, ACUÑA-CASTROVIEJO: Utility of high doses of melatonin as adjunctive anticonvulsant therapy in a child with severe myoclonic epilepsy: two years experience. *J Pineal Res*, 23:97-105, 1997.
44. MONTELEONE P, CATAPANO F, MAJ M, KEMALI D, REITER RJ: Circadian melatonin rhythm in patients with paranoid schizophrenia and obsessive-compulsive disorder. En: Touitou Y, Arendt J, Pevet P (eds). *Melatonin and the Pineal Gland: From Basic Science to Clinical Application*. Elsevier Science Publishers, 1993.
45. MOORE RY: Organization and function of a Central Nervous System circadian oscillator. *Fed Proc*, 42:2783-2789, 1983.
46. REITER RJ: Pineal melatonin: Cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocr Rev*, 12:151-180, 1991.
47. REITER RJ: The melatonin rhythm: both a clock and a calendar. *Experientia*, 49:654-664, 1993.
48. REITER RJ, MELCHIORRI D, SEWERYNEK E, POEGGELER B, BARLOW-WALDEN L, CHUANG JI, ORTIZ GG, ACUÑA-CASTROVIEJO D: A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. *J Pineal Res*, 18:1-11, 1995.
49. REPPERT SM, WEAVER DR, EBISAWA T: Cloning and characterization of mammalian melatonin receptor that mediates reproductive and circadian responses. *Neuron*, 13:1177-1185, 1995.
50. ROSENSTEIN RE, CARDINALI DP: Melatonin increases in vivo GABA accumulation in rat hypothalamus, cerebellum, cerebral cortex and pineal gland. *Brain Res*, 398:403-406, 1986.
51. SANDYK R: Diurnal variations in vision and relations to circadian melatonin secretion in multiple sclerosis. *Int J Neurosci*, 83:1-6, 1995.
52. SANDYK R, AWERBUCH GI: Nocturnal melatonin secretion in multiple sclerosis patients with affective disorders. *Int J Neurosci*, 68:227-240, 1993.
53. SCHIEBLER W, JAFIN R, DOUCET JP, ROTHLEIN J, GREENGARD P: Characterization of synapsin I binding to small synaptic vesicles. *J Biol Chem*, 261:8383-8390, 1986.
54. SINGER C, McARTHUR A, HUGHES R, JACKSON J, MOFFIT M, SACK R, LEWY AJ: Melatonin administration and sleep in the elderly. En: *Hypothalamic Integration of Circadian Rhythm*, 19th International Summer School of Brain Research, Amsterdam, 1995.
55. STANKOV B, FRASCHINI F, REITER RJ: Melatonin binding sites in the central nervous system. *Brain Res Rev*, 16:245-256, 1991.
56. UCHIDA K, OKAMOTO N, OHARA K, MORITA Y: Daily rhythm of serum melatonin in patients with dementia of the degenerative type. *Brain Res*, 717:154-159, 1996.
57. WIRZ-JUSTICE A, GRAW P, KRAUCHI K, GISIN B, JOCHUM A, ARENDT J, FISCH HU, BUDDEBERG C, POLDINGER W: Light therapy in seasonal affective disorder is independent of time of day or circadian phase. *Arch Gen Psychia*, 50:929-937, 1993.
58. WURTMAN R, ANTON-TAY F: The mammalian pineal as a neuroendocrine transducer. *Rec Progr Horm Res*, 25:493-514, 1969.
59. ZISAPEL N, EGOZI Y, LAUDON M: Circadian variations in the inhibition of dopamine release from adult and newborn rat hypothalamus by melatonin. *Neuroendocrinology*, 40:102-108, 1985.