

# Melatonina y aterosclerosis coronaria

Alberto Domínguez-Rodríguez<sup>a</sup>, Sima Samimi-Fard<sup>a</sup>, Pedro Abreu-González<sup>b</sup> y Juan Carlos Kaski<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Cardiología. Hospital Universitario de Canarias. La Laguna. Santa Cruz. España.

<sup>b</sup>Departamento de Fisiología. Universidad de La Laguna. Santa Cruz. España.

<sup>c</sup>Departamento de Ciencias Cardiológicas. St. George's Hospital. Londres. Reino Unido.

Se ha puesto en evidencia, en estudios clínicos realizados en humanos y en experimentación animal, la relación entre las concentraciones séricas de la hormona circadiana melatonina y la enfermedad arterial coronaria. En los últimos años se han descrito las interesantes funciones inmunomoduladoras que tiene la melatonina tanto en la vertiente celular como en la humoral. Se ha demostrado la interrelación de la melatonina en la enfermedad coronaria aguda con las diferentes moléculas inflamatorias que intervienen en la aterosclerosis coronaria. Además, se ha descrito que la melatonina podría tener un efecto protector contra las lesiones celulares inducidas por la formación de radicales libres, y así evita las lesiones producidas por la reperfusión en tejidos previamente isquémicos. Este artículo aborda una revisión sobre la biología de la melatonina, su relación con la aterosclerosis coronaria y su posible uso terapéutico.

*Palabras clave:*

Melatonina. Tratamiento antioxidante. Aterosclerosis. Estrés oxidativo.

## MELATONIN AND CORONARY ARTERY DISEASE

Clinical studies in humans and experimental animal models have shown a relationship between serum melatonin levels and the presence of

coronary artery disease. Moreover, in the past few years studies have highlighted the important immunomodulatory properties of melatonin at both cellular and humoral levels. In this context, it has been demonstrated that melatonin plays a modulatory role in acute coronary artery disease that affects the different inflammatory molecules that participate in the atherosclerotic process. It has been also suggested that melatonin might exert a protective effect against the cellular damage induced by free radicals during reperfusion injury. The present article reviews the biological properties of melatonin, and the relationship between this molecule and coronary atherosclerosis and potential therapeutic options with the use of melatonin.

*Key words:*

Melatonin. Antioxidant therapy. Atherosclerosis. Oxidative stress.

La melatonina es una indolamina producida principalmente y de forma circadiana por la glándula pineal. Regula diversas funciones fisiológicas y neuroendocrinas, bien mediante receptores específicos, bien de forma directa en orgánulos subcelulares. Inicialmente se describieron sus acciones en relación con el eje neuroendocrino-reproductivo<sup>1,2</sup>. No obstante, numerosas observaciones realizadas posteriormente han puesto en evidencia sus múltiples funciones inmunomoduladoras, tanto en la vertiente celular como en la humoral<sup>3</sup>. De igual manera, especial interés suscita su actividad antioxidante, la cual ejerce por la capacidad que tiene para captar directamente especies reactivas de oxígeno —sustancias altamente tóxicas— actuando como recolector de radicales libres. Mediante esta actividad tiene la capacidad de proteger del daño oxidativo, sobre todo al ADN y las membranas ce-

Correspondencia: Dr. A. Domínguez Rodríguez.  
Unidad Coronaria. Servicio de Cardiología.  
Hospital Universitario de Canarias.  
Ofra, s/n. 38320 La Cuesta. La Laguna. Tenerife. España.  
Correo electrónico: adrvdg@hotmail.com

Recibido el 4 de marzo de 2009 y aceptado el 28 de mayo de 2009.

lulares, por ciertos productos formados durante situaciones isquémicas<sup>3</sup>.

En este artículo planteamos una concisa revisión sobre la biología de la melatonina, su relación con la aterosclerosis coronaria y las opciones terapéuticas.

## Biología de la melatonina

### Síntesis de la melatonina

La melatonina, un derivado del triptófano, se aisló e identificó estructuralmente por primera vez en 1958 a partir de extractos de glándula pineal bovina<sup>1</sup>. Su síntesis se realiza a partir del aminoácido triptófano que, por acción de una triptófano hidroxilasa, se convierte a 5-hidroxitriptófano y éste, por descarboxilación, a serotonina. La serotonina, a su vez, por acción de dos enzimas: arilalquilamina N-acetiltransferasa e hidroxindol-O-metiltransferasa, se transforma en melatonina<sup>2,3</sup> (fig. 1). A pesar de que ambas enzimas tienen un papel importante en la síntesis de la melatonina, parece que la enzima limitante es la arilalquilamina N-acetiltransferasa. Sin embargo, ciertos estudios en animales han demostrado que sólo un aumento en la actividad de la hidroxindol-O-metiltransferasa, y no de la arilalquilamina N-acetiltransferasa, es capaz de estimular la síntesis de melatonina<sup>4,5</sup>.

En la glándula pineal, tanto la síntesis como la secreción masiva de melatonina se producen durante la noche; la luz es el principal factor ambiental que regula la secreción de melatonina<sup>2</sup>. El estímulo lumínico procedente de la retina se transmite a través del tracto retinohipotalámico al núcleo supraquiasmático del hipotálamo ("reloj biológico") y de allí al sistema nervioso simpático a través de fibras procedentes de los ganglios simpáticos cervicales. Los estímulos adrenérgicos (noradrenalina) alcanzan la glándula pineal y estimulan mayoritariamente receptores betaadrenérgicos en los pinealocitos. Esto inicia la producción de melatonina por un aumento intracelular del AMP cíclico. Estímulos adrenérgicos  $\alpha_1$  también contribuyen, sinérgicamente, con los betaadrenérgicos y, por el aumento de los inosítoles fosfatos, a aumentar su secreción<sup>3</sup>. La síntesis y la liberación se estimulan por la oscuridad y se inhiben por la luz siguiendo un ritmo circadiano. Durante las horas de luz las células fotorreceptoras retinianas están hiperpolarizadas, situación que inhibe la liberación de noradrenalina: el sistema retinohipotalámico pineal está quiescente. En la oscuridad, los fotorreceptores liberan noradrenalina, que activa el sistema, y se produce el aumento en la actividad glandular

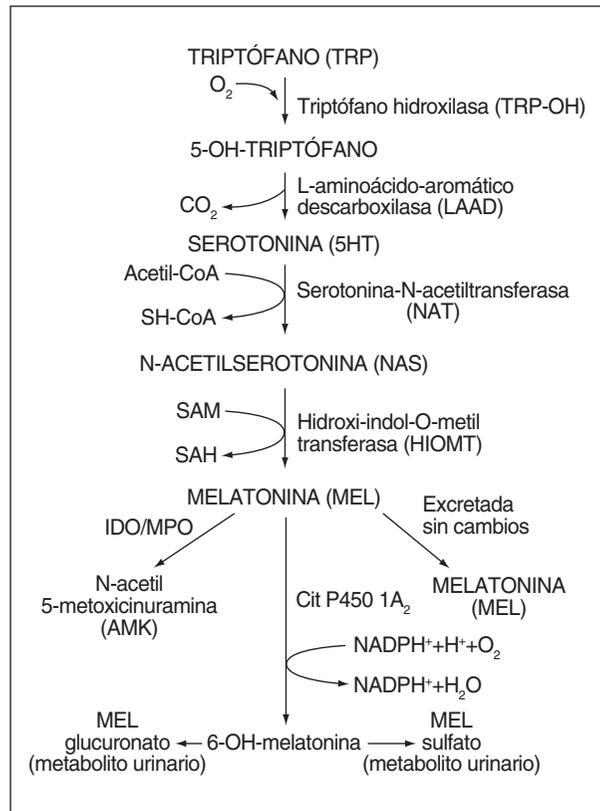


Figura 1. Ruta biosintética de la melatonina a partir del aminoácido triptófano (TRP). 5HT: 5-hidroxi triptamina o serotonina; SH-CoA: coenzima A; SAM: S-adenosil metionina; SAH: S-adenosil homocisteína; IDO: indoleamina-2,3 dioxigenasa; MPO: mieloperoxidasa.

(fig. 2). La melatonina se libera, fundamentalmente, a la corriente sanguínea por difusión pasiva, a medida que aumenta su síntesis. Su liberación tiene lugar pronto tras el comienzo de la oscuridad; el pico de concentración sérica (60-200 pg/ml) se produce en medio de la noche, entre las 2.00 y las 4.00. Posteriormente, desciende de forma gradual, y sus concentraciones séricas son menores durante el día (10-20 pg/ml)<sup>3</sup>. La amplitud de las concentraciones séricas día/noche de melatonina varía considerablemente de acuerdo con los diferentes estadios de la edad de los individuos. La mayor parte de la melatonina se encuentra en plasma unida a proteínas, con una cuarta parte que circula de forma libre<sup>3</sup>.

Aparte de la glándula pineal, numerosos tejidos y órganos extrapineales tienen la capacidad de sintetizar melatonina en concentraciones muy diversas. Entre ellos se encuentran: retina<sup>6</sup>, cuerpo ciliar<sup>7</sup>, cristalino<sup>8</sup>, glándula de Harder<sup>9</sup>, cerebro<sup>10</sup>, timo<sup>11</sup>, epitelio respiratorio<sup>12</sup>, médula ósea<sup>13,14</sup>, intestino<sup>15,16</sup>, ovarios<sup>17</sup>, testículos<sup>18</sup>, placenta<sup>19</sup>, linfocitos

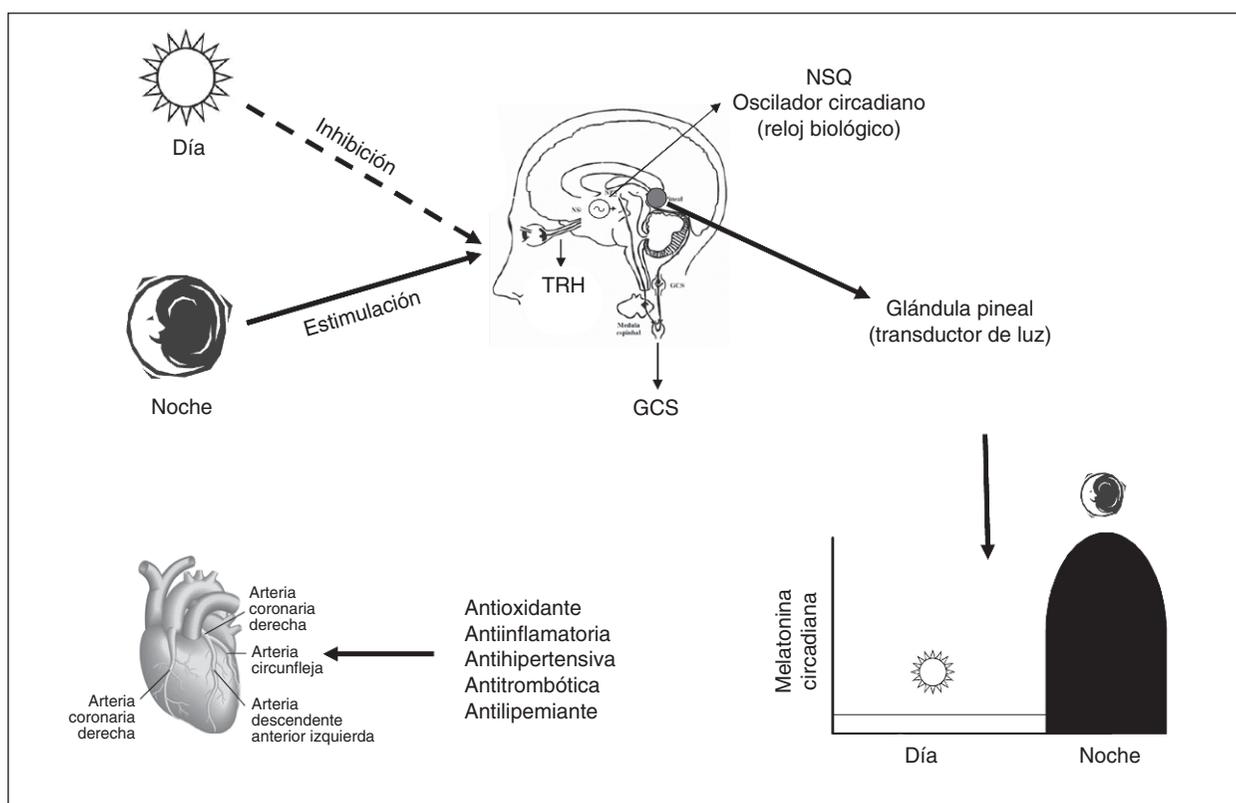


Figura 2. Esquema de la regulación fisiológica de la secreción circadiana de la melatonina. GSC: ganglio cervical superior; NSQ: núcleo supraquiasmático (hipotálamo); TRH: tracto retinohipotalámico.

tos<sup>20</sup> y piel<sup>21</sup>. La síntesis extrapineal de la melatonina no sigue un ritmo luz/oscuridad y se especula con que sea consumida localmente por los tejidos, cumpliendo una función protectora contra el estrés oxidativo<sup>22</sup>. Aparte de consumirse, una parte probablemente también se una a proteínas para su almacenamiento<sup>23</sup>.

#### Metabolitos de la melatonina

La melatonina se metaboliza principalmente en el hígado por acción del citocromo P450; se obtiene 6-hidroximelatonina que, a su vez, es conjugada a derivados sulfatados (70-80%) y glucuronizados (5%)<sup>24</sup>. Estos conjugados, una vez convertidos en moléculas polares, se eliminan en forma de 6-sulfatoximelatonina<sup>25</sup>.

El hígado no es el único órgano implicado en el metabolismo de la melatonina. Recientemente se ha demostrado que una parte de la 6-sulfatoximelatonina se produce en órganos extrahepáticos con altos valores de CYP1B126, como intestino, líquido cefalorraquídeo y piel.

Se han identificado otros metabolitos de la melatonina, entre los cuales tenemos:

- 6-hidroximelatonina: metabolito que se forma por vía no enzimática por la interacción de la melatonina con especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (radical hidroxilo y peroxinitrito)<sup>27-29</sup>.

- 3-hidroximelatonina cíclica: se produce por interacción de la melatonina con el radical hidroxilo<sup>30</sup> y el peroxinitrito<sup>28,31</sup>, y es un biomarcador fiable de las concentraciones endógenas de dichos radicales.

- N<sub>1</sub>-acetil-N<sub>2</sub>-formil-5-metoxicinuramina (AFMK) y N-acetil-5-metoxicinuramina (AMK): desde un punto de vista evolutivo, el AFMK apareció mucho antes que la 6-sulfatoximelatonina, por lo que se considera el metabolito original de la melatonina, si bien la 6-sulfatoximelatonina sigue siendo su principal metabolito urinario. El AFMK se puede producir vía enzimática o pseudoenzimática, por radiación ultravioleta, así como por la interacción con especies reactivas de oxígeno<sup>32</sup>. En algunos tejidos, especialmente en el sistema nervioso central, constituye el principal metabolito de la melatonina. También leucocitos, pulmones, eritrocitos y piel son capaces de producirlo. En cuanto al campo celular, la mitocondria es su principal lugar de producción debido a su

alto contenido en melatonina y citocromo C<sup>32</sup>. En situaciones de gran estrés oxidativo, sus concentraciones se ven incrementadas por la interacción directa de la melatonina con especies reactivas de oxígeno y nitrógeno. La excreción urinaria es limitada y no representa su producción real, ya que se trata de una molécula menos hidrófila que la 6-sulfatoximelatonina. Además, el AFMK se puede degradar a AMK y otras moléculas no cuantificables por los métodos disponibles en la actualidad. No obstante, se cree que la mayor parte de la melatonina es transformada en AFMK y sus derivados. Sin embargo, para demostrar este hecho en mamíferos aún se requieren más investigaciones.

#### *Funciones de los metabolitos de la melatonina*

En cuanto a las funciones de los principales metabolitos de la melatonina, tenemos:

- 6-hidroxi melatonina: protege contra el daño del ADN mediante su actividad antioxidante y de recolector directo de radicales libres, que comparte con la propia melatonina<sup>33-35</sup>.

- 3-hidroxi melatonina cíclica: sus funciones y distribución en el organismo no están claras. Su parecido estructural con un inhibidor de la colinesterasa (fisostigmina) hace pensar en su potencial utilidad clínica en el tratamiento de enfermedades relacionadas con una alteración de la transmisión colinérgica como, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer<sup>36</sup>. Su producción siempre se acompaña de la de AFMK; se mantiene un equilibrio entre ambas moléculas que depende de la concentración de oxidantes endógenos. De hecho, la 3-hidroxi melatonina cíclica se convierte en AFMK, probablemente por su interacción y captación de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno. Así, la relación 3-hidroxi melatonina cíclica/AFMK probablemente sea un indicador del grado de estrés oxidativo de un sistema que los organismos podrían utilizar para modular su actividad antioxidante.

- AFMK y AMK: son los principales metabolitos de la melatonina. La capacidad antioxidante del AFMK es similar a la de la melatonina<sup>37</sup>, ya que reduce la peroxidación lipídica y el daño oxidativo del ADN y previene la lesión neuronal inducida por el peróxido de hidrógeno y el péptido betaamiloide<sup>38-41</sup>. El AMK, por su parte, presenta mayor eficacia antioxidante que el AFMK<sup>42</sup>, ya que inhibe la actividad de la sintetasa de óxido nítrico neuronal y reduce las concentraciones intracelulares de óxido nítrico<sup>43,44</sup>. Ambas moléculas presentan actividades antiinflamatorias e inmunorreguladoras: el AMK inhibe la biosíntesis de prostaglandinas<sup>45</sup>, el AFMK, la forma-

ción de factor de necrosis tumoral alfa e interleucina 8 en neutrófilos y células mononucleares de la sangre periférica, y ambos inhiben la expresión génica de la ciclooxigenasa 2 (COX-2), una enzima proinflamatoria<sup>46</sup>. En resumen, tanto el AFMK como el AMK tienen la capacidad de disminuir la actividad de enzimas prooxidantes y proinflamatorias, así como de llevar a cabo funciones "antirradicales libres". El hecho de que la capacidad recolectora de radicales libres de la melatonina se extienda también a sus metabolitos la convierte en la biomolécula con mayor poder antioxidante, incluso a bajas concentraciones. El fenómeno por el cual la melatonina y sus metabolitos interactúan con especies reactivas de oxígeno y nitrógeno se conoce como la "reacción recolectora en cascada de la melatonina".

#### *Receptores de la melatonina*

La melatonina actúa por la unión a proteínas intracelulares y dos tipos de receptores de superficie: receptores nucleares específicos de la familia RZR/ROR y receptores de membrana plasmática.

Entre las proteínas intracelulares, se ha demostrado que la melatonina interactúa con la calmodulina, implicada en la transducción de la señal a segundos mensajeros, antagonizando la unión del calcio a ésta<sup>47</sup>. Se postula que los efectos antiproliferativos de la melatonina en células cancerosas de mama puedan estar mediados por este mecanismo<sup>48</sup>.

En cuanto a los receptores nucleares, se distinguen tres subtipos en función del órgano en el que se expresan:

- RZR/ROR $\alpha$ : expresado en varios órganos.
- RZR/ROR $\beta$ : específico de cerebro y retina<sup>49</sup>.
- RZR/ROR $\gamma$ : localizado en el cromosoma 1 en humanos. Se expresa en varios tejidos, pero su mayor índice de expresión es en el músculo esquelético<sup>50</sup>.

Estos receptores nucleares parecen estar implicados, al menos parcialmente, en los efectos inmunomoduladores y circadianos de la melatonina<sup>51-53</sup>.

En cuanto a los receptores de membrana plasmática, de los cuales, hasta la fecha, se han clonado dos subtipos en mamíferos: MT1 (o Mel1a) y MT2 (o Mel1b)<sup>54</sup>, ambos se expresan de forma variable en múltiples órganos y tejidos humanos, sin que se conozca, en la mayoría de los casos, la función biológica que desempeñan. En el sistema cardiovascular, por ejemplo, su existencia ha sido demostrada en la pared ventricular, las arterias coronarias y la aorta; el significado de este hallazgo

es incierto<sup>55-57</sup>. Sin embargo, recientemente, Dubovich et al<sup>58</sup> han señalado que la participación de ambos receptores de melatonina en las arterias de mamíferos presenta una relación antagónica. El receptor MT1 se comporta como vasoconstrictor arterial, mientras que la activación del receptor MT2 induce vasodilatación.

En relación con la genética de los receptores de la melatonina, dos estudios de Ebisawa et al<sup>59,60</sup>, realizados en sujetos con trastornos circadianos del ritmo del sueño, han identificado varios polimorfismos genéticos de los receptores MT1 y MT2, sin encontrar una asociación estadísticamente significativa entre los polimorfismos genéticos y los trastornos del sueño.

### Melatonina y síndrome coronario agudo

#### *Melatonina, aterosclerosis e inflamación*

En las últimas dos décadas, uno de los aspectos que ha suscitado mayor interés en el campo de la investigación cardiovascular es la relación entre aterosclerosis e inflamación<sup>61</sup>. Hoy día se considera la aterosclerosis una enfermedad inflamatoria en la que interviene tanto su componente celular como el humoral<sup>62</sup>. En ella concurren diversos tipos celulares: monocitos, macrófagos, linfocitos T y células musculares lisas, así como una gran variedad de factores humorales, citocinas y otros mediadores de la inflamación, entre los cuales se incluyen quimiocinas, moléculas de adhesión vascular e intercelular, selectinas, factores estimuladores del crecimiento de colonias de células inflamatorias, como granulocitos y macrófagos, e interleucinas moduladas en parte por partículas de lipoproteínas de baja densidad oxidadas (oxLDL)<sup>63</sup>.

En los últimos años se han descrito las interesantes funciones inmunomoduladoras que tiene la melatonina, tanto en la vertiente celular como en la humoral<sup>64,65</sup>. Se ha puesto de evidencia su capacidad para incrementar el número y la respuesta de las células productoras de anticuerpos, regular la expresión génica y la producción de múltiples mediadores de la inmunidad, aumentar la capacidad de los macrófagos de presentación de antígenos a las células T, incrementar la expresión de las moléculas del sistema mayor de histocompatibilidad de clase II, aumentar la producción de interleucina 1 y factor de necrosis tumoral alfa y regular al alza la expresión génica del factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos, factor de necrosis tumoral alfa, factor transformador del crecimiento de tipo beta, así como interleucina 1 $\beta$  e interferón gamma, entre otras<sup>64,65</sup>.

Diversos estudios clínicos realizados en humanos han puesto en evidencia la relación entre las concentraciones séricas de melatonina y la enfermedad arterial coronaria<sup>66-69</sup>. La observación de que pacientes con enfermedad coronaria presentaban concentraciones nocturnas reducidas de melatonina y que en aquellos con infarto agudo de miocardio su concentración eran menores que en los sujetos controles<sup>70</sup> ha llevado a indicar que esta disminución de los valores nocturnos de melatonina se deba, al menos en parte, a sus efectos antioxidantes, concretamente, a su capacidad para actuar como recolector de radicales libres (*radical scavenger*) generados en las primeras 24 h del infarto agudo de miocardio. No obstante, hasta el momento se desconoce si este hallazgo es causa, efecto o incluso una característica relacionada con una función cardiovascular comprometida<sup>71</sup>.

Se han descrito dos posibles mecanismos que podrían explicar los efectos antioxidantes de la melatonina en los pacientes con infarto agudo de miocardio: *a*) por acción directa como recolector de radicales libres, desintoxicando especies reactivas de oxígeno y nitrógeno por vías no enzimáticas, que así resulta en la formación de otro potente antioxidante: AFMK39, y *b*) mediante un mecanismo de acción indirecta por la estimulación de varias enzimas antioxidantes y la estabilización de la fluidez de las membranas<sup>72</sup>.

La capacidad antioxidante de la melatonina tiene un papel fundamental en la progresión de la placa aterosclerótica formada por las lipoproteínas de baja densidad y otros productos lipídicos oxidados<sup>73</sup>. En un estudio realizado por Domínguez Rodríguez et al<sup>74</sup> se demostró la relación independiente entre las concentraciones nocturnas de oxLDL y la melatonina en los pacientes con infarto agudo de miocardio. Los autores indican que las concentraciones nocturnas de melatonina en sangre pueden ser necesarias, junto con otros antioxidantes fisiológicos, para intentar mantener el estrés oxidativo lo más bajo posible.

El sustrato inflamatorio involucrado en los síndromes coronarios agudos es extremadamente complejo, con un gran número de factores implicados tanto en su activación como en su modulación<sup>75,76</sup>. Recientemente, trabajos de nuestro grupo han demostrado, en pacientes con síndrome coronario agudo, la variabilidad diurna en las concentraciones séricas de interleucina 6<sup>77-79</sup>, proteína C reactiva<sup>80,81</sup>, metaloproteínasa 9<sup>82,83</sup> y molécula de adhesión intercelular 1<sup>84</sup>; esto indica que, al menos en parte, podrían tener una regulación neuroendocrina central y, en particular, en relación con la melatonina.

*Melatonina y daño por reperfusión*

Al restaurar el flujo sanguíneo en corazones isquémicos, se producen radicales libres derivados de oxígeno, como el anión superóxido, los radicales hidroxilos y el peróxido de hidrógeno, que poseen la capacidad de dañar las membranas celulares<sup>85</sup>. La peroxidación lipídica de las membranas produce daño estructural y funcional, que condiciona un aumento en la permeabilidad de la membrana al calcio, lo que finalmente conlleva un incremento en el calcio intracelular<sup>86</sup>. Los tres mecanismos principales de daño por radicales libres son: la peroxidación de lípidos, la oxidación de las proteínas y la rotura/alteración del ADN. Hay dos vías mediante las cuales los radicales superóxido pueden generar radicales hidroxilo. Una de ellas involucra la participación del óxido nítrico por la formación de un compuesto denominado peroxinitrito, compuesto tóxico, inestable y altamente reactivo que causa peroxidación de lípidos y daño miocárdico<sup>86</sup>. Estudios durante la realización de angioplastia coronaria transluminal percutánea demuestran la presencia de marcadores indirectos de la producción de radicales libres en la sangre del seno coronario (malondialdehído, ácido úrico y glutatión oxidado)<sup>87</sup>.

Se han empleado diversos procedimientos para tratar, inhibir o contrarrestar el daño por reperfusión. La melatonina, por sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias<sup>71</sup>, ha demostrado resultados beneficiosos, con un efecto protector significativo en varios modelos experimentales de daño por reperfusión<sup>86</sup>.

Los primeros estudios analizaron el efecto de las concentraciones fisiológicas de melatonina<sup>71,88,89</sup>, y demostraron que las ratas pinealectomizadas, con concentraciones endógenas de melatonina muy bajas, presentaban mayores mortalidad y tamaño del área de necrosis de la zona infartada. Posteriormente, en varios estudios de experimentación animal<sup>71</sup>, se ha objetivado que la administración de melatonina durante el período de isquemia-reperfusión disminuye de manera muy significativa la duración de las arritmias de reperfusión, reestablece la función ventricular y disminuye el área de necrosis y la peroxidación lipídica<sup>90-92</sup>. Nuestro grupo ha demostrado recientemente que, en pacientes con infarto agudo de miocardio tratados con angioplastia primaria, las concentraciones circulantes de albúmina modificada por la isquemia (marcador muy sensible de isquemia)<sup>93</sup> se correlacionan negativamente con la melatonina. Nuestros resultados confirman que la melatonina tiene un efecto beneficioso como recolector de radicales libres de oxí-

geno en un modelo humano de isquemia-reperfusión miocárdica<sup>94</sup>.

La melatonina ha demostrado su efecto cardioprotector mediante los siguientes mecanismos:

*1. Antioxidante.*

– Acción directa (independiente del receptor): la melatonina y algunos de sus metabolitos (6-hidroximelatonina y AFMK) son recolectores muy efectivos de los radicales libres de oxígeno y nitrógeno<sup>39,95,96</sup>. En la misma línea, la melatonina reduce las concentraciones del radical peroxinitrito (ONOO°) mediante su propia reacción directa de nitración produciendo, entre otros metabolitos, la 1-nitromelatonina<sup>97</sup>.

– Acción indirecta (mediada por receptores de membrana o nucleares): la melatonina es capaz de estimular la actividad de diversas enzimas antioxidantes, como la superóxido dismutasa, la catalasa y la glutatión peroxidasa. La superóxido dismutasa transforma el anión superóxido en peróxido de hidrógeno que, a su vez, es metabolizado por la catalasa y la glutatión peroxidasa, de tal forma que disminuye la formación del radical hidroxilo<sup>98</sup>. Asimismo, se ha demostrado que aumenta los valores del glutatión, un importante antioxidante intracelular, mediante la estimulación de la enzima gammaglutamilcisteinsintetasa<sup>99</sup>.

– En la cadena respiratoria: disminuye la pérdida de electrones y, por lo tanto, la producción de radicales libres<sup>100-101</sup>.

*2. Antiinflamatoria.* Disminución de la actividad de la mieloperoxidasa, la concentración intracelular de calcio, el reclutamiento de leucocitos en los tejidos lesionados, la expresión de moléculas de adhesión y del factor de transcripción nuclear kappa B<sup>46,64,65,71</sup>.

**La melatonina como agente terapéutico**

La vía de administración de la melatonina en humanos es, fundamentalmente, la oral, aunque también se han empleado la sublingual, la transdérmica<sup>102</sup> y la intravenosa<sup>103,104</sup>. Diversos estudios han analizado la farmacocinética de la melatonina por vía intravenosa, intentando reproducir su secreción nocturna en humanos. Según su perfil farmacocinético, la curva de eliminación de la melatonina por vía intravenosa es una exponencial negativa que presenta 2 pendientes, alfa y beta, con un  $t_{1/2\alpha}$  de 1,35 min y un  $t_{1/2\beta}$  de 28,4 min, con aclaramiento sistémico de 966 ml/min y volumen aparente de distribución de 35,1 l<sup>103-105</sup>.

En estudios realizados en humanos, donde el intervalo de utilización de la melatonina varía desde pocos miligramos (1-2) hasta dosis suprafisiológicas

cas (1,6 g), no se hace mención de efectos toxicológicos que pudieran ser lesivos para ellos<sup>106</sup>. Asimismo, Seabra et al<sup>107</sup> realizaron un estudio con 40 voluntarios sanos, aleatorizado y a doble ciego, con melatonina (10 mg/día, durante 28 días) y placebo. En este estudio, se realizaron análisis bioquímicos y hormonales a todos los sujetos para poder detectar posibles alteraciones en algunos de sus órganos; se concluyó que ésta carecía de toxicidad. A este respecto, otros autores han demostrado que la administración de melatonina por vía oral disminuye la presión arterial y el tono simpático de las arterias, sin modificar la frecuencia cardíaca<sup>108</sup>. Recientemente, Gitto et al<sup>109-111</sup> realizaron un estudio en que administraron melatonina por vía intravenosa a recién nacidos con síndrome de disnea. El estudio evidenció: mejoría del estado oxidativo, disminución de los parámetros inflamatorios y mejora de la supervivencia.

La evidencia científica disponible en la actualidad acerca de la relación entre la melatonina y la enfermedad arterial coronaria ha llevado a nuestro grupo a realizar un ensayo clínico (estudio MARIA) en fase II, administrando melatonina intravenosa como tratamiento coadyuvante a la revascularización primaria en el infarto agudo de miocardio<sup>112</sup>. Este ensayo clínico trataría de demostrar que la melatonina inhibe el daño por reperfusión contrarrestándolo y, por lo tanto, produciría una disminución en el tamaño del área de necrosis y, por ende, mejoría de los acontecimientos cardiovasculares mayores. La melatonina es una molécula endógena, de escasos efectos secundarios y de un coste económico bajo.

## Conclusiones

La evidencia en los últimos 10 años indica que la melatonina tiene influencia en el sistema cardiovascular humano. Numerosos estudios demuestran que pacientes con enfermedad arterial coronaria tienen una concentración sanguínea de melatonina disminuida. Su función antioxidante se basa en la capacidad neutralizadora de los radicales libres. Su naturaleza lipofílica le permite atravesar con extrema facilidad las membranas celulares y acceder a los compartimentos celulares, en los que se originan radicales libres producidos como consecuencia del metabolismo aeróbico. Por todo ello, se considera la melatonina como uno de los componentes esenciales del sistema de defensa antioxidante de los organismos, y quizá el mejor de todos los agentes antioxidantes conocidos. Su importante significado clínico y las posibilidades como agente terapéutico determinan que esta molécula asegure su relevancia clínica en los próximos años.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

## Bibliografía

- Lerner AB, Case JD, Takahashi Y. Isolation of melatonin, a pineal factor that lightens melanocytes. *J Am Chem Soc.* 1958;80:2587.
- Claustrat B, Brun J, Chazot G. The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep Med Rev.* 2005;9:11-24.
- Reiter RJ. Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocr Rev.* 1991;12:151-80.
- Ribelayga C, Pevet P, Simmoneaux V. HIOMT drives the photoperiodic changes in the amplitude of the melatonin peak of the Siberian hamster. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2000;278:R1339-45.
- Ceinos RM, Chansard M, Revel F, Calgari C, Miguez JM, Simmoneaux V. Analysis of adrenergic regulation of melatonin synthesis in Siberian hamster pineal emphasizes the role of HIOMT. *Neurosignals.* 2004;13:308-17.
- Iuvone PM, Besharse JC. Regulation of indoleamine N-acetyltransferase activity in the retina: effects of light and dark, protein synthesis inhibitors and cyclic nucleotide analogs. *Brain Res.* 1983;273:111-9.
- Martin XD, Malina HZ, Brennan MC, Hendrickson PH, Lichter PR. The ciliary body — the third organ found to synthesize indoleamines in humans. *Eur J Ophthalmol.* 1992;2:67-72.
- Abe M, Itoh MT, Miyata M, Ishikawa S, Sumi Y. Detection of melatonin, its precursors and related enzyme activities in rabbit lens. *Exp Eye Res.* 1999;68:255-62.
- Menendez-Pelaez A, Howes KA, Gonzalez-Brito A, Reiter RJ. N-acetyltransferase activity, hydroxyindole-O-methyltransferase activity, and melatonin levels in the Harderian glands of the female Syrian hamster: changes during the light:dark cycle and the effect of 6-parachlorophenylalanine administration. *Biochem Biophys Res Commun.* 1987;145:1231-8.
- Stefulj J, Hörtnner M, Ghosh M, Schauenstein K, Rinner I, Wölfler A, et al. Gene expression of the key enzymes of melatonin synthesis in extrapineal tissues of the rat. *J Pineal Res.* 2001;30:243-7.
- Jimenez-Jorge S, Jimenez-Caliani AJ, Guerrero JM, Naranjo MC, Lardone PJ, Carrillo-Vico A, et al. Melatonin synthesis and melatonin-membrane receptor (MT1) expression during rat thymus development: role of the pineal gland. *J Pineal Res.* 2005;39:77-83.
- Kvetnoy IM. Extrapineal melatonin: location and role within diffuse neuroendocrine system. *Histochem J.* 1999;31:1-12.
- Tan DX, Manchester LC, Reiter RJ, Qi WB, Zhang M, Weintraub ST, et al. Identification of highly elevated levels of melatonin in bone marrow: its origin and significance. *Biochim Biophys Acta.* 1999;1472:206-14.
- Conti A, Conconi S, Hertens E, Skwarlo-Sonta K, Markowska M, Maestroni JM. Evidence for melatonin synthesis in mouse and human bone marrow cells. *J Pineal Res.* 2000;28:193-202.
- Huether G, Poeggeler B, Reimer A, George A. Effect of tryptophan administration on circulating melatonin levels in chicks and rats: evidence for stimulation of melatonin synthesis and release in the gastrointestinal tract. *Life Sci.* 1992;51:945-53.
- Huether G. The contribution of extrapineal sites of melatonin synthesis to circulating melatonin levels in higher vertebrates. *Experientia.* 1993;49:665-70.
- Itoh MT, Ishizuha B, Kuribayashi Y, Amemiya A, Sumi Y. Melatonin, its precursors, and synthesizing enzyme activities in the human ovary. *Mol Hum Reprod.* 1999;5:402-8.
- Tijmes M, Pedraza R, Valladares L. Melatonin in the rat testis: evidence for local synthesis. *Steroids.* 1996;61:65-8.
- Iwasaki S, Nakazawa K, Sakai J, Kometani K, Iwashita M, Yoshimura Y, et al. Melatonin as a local regulator of human placental function. *J Pineal Res.* 2005;39:261-5.
- Carrillo-Vico A, Calvo JR, Abreu P, Lardone PJ, García-Mauriño S, Reiter RJ, et al. Evidence of melatonin synthesis by human lymphocytes and its physiological significance: possible role as intra-

- crine, autocrine and/or paracrine substance. *FASEB J.* 2004;18:537-9.
21. Fischer TW, Sweatman TW, Semak I, Sayre RM, Wortsman J, Słominski A. Constitutive and UV-induced metabolism of melatonin in keratinocytes and cell-free systems. *FASEB J.* 2006;20:1564-6.
  22. Tan DX, Manchester LC, Hardeland R, Lopez-Burillo S, Mayo JC, Sainz RM, et al. Melatonin: a hormone, a tissue factor, an auto-coid, a paracoid, and an antioxidant vitamin. *J Pineal Res.* 2003;34:75-8.
  23. Lahiri DK, Davis D, Nurnberger Jr JI. Detection of specific protein bands with melatonin-like immunoreactivity in different cell lines and human brain regions. *IUBMB Life.* 1999;48:127-32.
  24. Cardinali DP. Melatonin. A mammalian pineal hormone. *Endocr Rev.* 1981;2:327-46.
  25. Markey SP, Higa S, Shih M, Danforth DN, Tamarkin L. The correlation between human plasma melatonin levels and urinary 6-hydroxymelatonin excretion. *Clin Chim Acta.* 1985;150:221-5.
  26. Ma X, Idle JR, Krausz KW, Gonzalez FJ. Metabolism of melatonin by human cytochromes p450. *Drug Metab Dispos.* 2005;33:489-94.
  27. Zhang H, Squadrito GL, Pryor WA. The reaction of melatonin with peroxynitrite: formation of melatonin radical cation and absence of stable nitrated products. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998;251:83-7.
  28. Zhang H, Squadrito GL, Uppu R, Pryor WA. Reaction of peroxynitrite with melatonin: a mechanistic study. *Chem Res Toxicol.* 1999;12:526-34.
  29. Horstmann JA, Wrona MZ, Dryhurst G. Further insights into the reaction of melatonin with hydroxyl radical. *Bioorg Chem.* 2002;30:371-82.
  30. Tan DX, Manchester LC, Reiter RJ, Plummer BF, Hardies LJ, Weintraub ST, et al. A novel melatonin metabolite, cyclic 3-hydroxymelatonin: A biomarker of melatonin interaction with hydroxyl radicals. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998;253:614-20.
  31. Peyrot F, Houée-Levin C, Ducrocq C. Melatonin nitrosation promoted by NO<sup>2</sup>; comparison with the peroxynitrite reaction. *Free Radic Res.* 2006;40:910-20.
  32. Semak I, Naumova M, Korik E, Terekhovich V, Wortsman J, Słominski A. A novel metabolic pathway of melatonin: oxidation by cytochrome C. *Biochemistry.* 2005;44:9300-7.
  33. Matuszak Z, Bilska MA, Reszka KJ, Chignell CF, Bilski P. Interaction of singlet molecular oxygen with melatonin and related indoles. *Photochem Photobiol.* 2003;78:449-55.
  34. Maharaj DS, Limson JL, Daya S. Hydroxymelatonin converts Fe(III) to Fe(II) and reduces iron-induced lipid peroxidation. *Life Sci.* 2003;72:1367-75.
  35. Liu X, Chen Z, Chua CC, Ma YS, Youngberg GA, Hamdy R, et al. Melatonin as an effective protector against doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2002;283:H254-63.
  36. Lahiri DK, Chen DM, Lahiri P, Bondy S, Greig NH. Amyloid, cholinesterase, melatonin, and metals and their roles in aging and neurodegenerative diseases. *Ann N Y Acad Sci.* 2005;1056:430-49.
  37. Maharaj DS, Anoopkumar-Dukie S, Glass BD, Antunes EM, Lack B, Walker RB, et al. The identification of the UV degradants of melatonin and their ability to scavenge free radicals. *J Pineal Res.* 2002;32:257-61.
  38. Srinivasan V, Pandi-Perumal SR, Cardinali DP, Poeggeler B, Hardeland R. Melatonin in Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders. *Behav Brain Funct.* 2006;2:1-23.
  39. Tan DX, Manchester LC, Burkhardt S, Sainz RM, Mayo JC, Kohlen R, et al. N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine, a biogenic amine and melatonin metabolite, functions as a potent antioxidant. *FASEB J.* 2001;15:2294-6.
  40. Burkhardt S, Reiter RJ, Tan DX, Hardeland R, Cabrera J, Karbownik M. DNA oxidatively damaged by chromium(III) and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> is protected by the antioxidants melatonin, N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine, resveratrol and uric acid. *Int J Biochem Cell Biol.* 2001;33:775-83.
  41. Onuki J, Almeida EA, Medeiros MH, Di Mascio P. Inhibition of 5-aminolevulinic acid-induced DNA damage by melatonin, N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine, quercetin or resveratrol. *J Pineal Res.* 2005;38:107-15.
  42. Ressmeyer AR, Mayo JC, Zelosko V, Sainz RM, Tan DX, Poeggeler B, et al. Antioxidant properties of the melatonin metabolite N1-acetyl-5-methoxykynuramine (AMK): scavenging of free radicals and prevention of protein destruction. *Redox Rep.* 2003;8:205-13.
  43. Entrena A, Camacho ME, Carrion MD, López-Cara LC, Velasco G, León J, et al. Kynurenamines as neural nitric oxide synthase inhibitors. *J Med Chem.* 2005;48:8174-81.
  44. Leon J, Escames G, Rodríguez MI, López LC, Tapias V, Entrena A, et al. Inhibition of neuronal nitric oxide synthase activity by N1-acetyl-5-methoxykynuramine, a brain metabolite of melatonin. *J Neurochem.* 2006;98:2023-33.
  45. Kelly RW, Amato F, Seamark RF. N-acetyl-5-methoxykynurenamine, a brain metabolite of melatonin, is a potent inhibitor of prostaglandin biosynthesis. *Biochem Biophys Res Commun.* 1984;121:372-9.
  46. Mayo JC, Sainz RM, Tan DX, Hardeland R, Leon J, Rodriguez C, et al. Anti-inflammatory actions of melatonin and its metabolites, N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine (AFMK) and N1-acetyl-5-methoxykynuramine (AMK), in macrophages. *J Neuroimmunol.* 2005;165:139-49.
  47. Benitez-King G, Anton-Tay F. Calmodulin mediates melatonin cytoskeletal effects. *Experientia.* 1993;49:635-41.
  48. Sanchez-Barcelo EJ, Cos S, Mediavilla D, Martínez-Campa C, González A, Alonso-González C. Melatonin-estrogen interactions in breast cancer. *J Pineal Res.* 2005;38:217-22.
  49. Smirnov AN. Nuclear melatonin receptors. *Biochemistry.* 2001;66:19-26.
  50. Hirose T, Smith RJ, Jetten AM. ROR gamma: the third member of ROR/RZR orphan receptor subfamily that is highly expressed in skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun.* 1994;205:1976-83.
  51. Steinhilber D, Brungs M, Werz O, Wiesenberg I, Danielsson C, Kahlen JP, et al. The nuclear receptor for melatonin represses 5-lipoxygenase gene expression in human B lymphocytes. *J Biol Chem.* 1995;270:7037-40.
  52. Garcia-Maurino S, Gonzalez-Haba MG, Calvo JR, Goberna R, Guerrero JM. Involvement of nuclear binding sites for melatonin in the regulation of IL-2 and IL-6 production by human blood mononuclear cells. *J Neuroimmunol.* 1998;92:76-84.
  53. Carrillo-Vico A, Lardone PJ, Fernandez-Santos JM, Martin-Lacave, Calvo JR, Karasek M, et al. Human lymphocyte-synthesized melatonin is involved in the regulation of the interleukin-2/interleukin-2 receptor system. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:992-1000.
  54. Dubocovich ML, Rivera-Bermudez MA, Gerdin MJ, Masana MI. Molecular pharmacology, regulation and function of mammalian melatonin receptors. *Front Biosci.* 2003;8:d1093-108.
  55. Ekmekcioglu C, Thalhammer T, Humpeler S, Mehrabi MR, Glogar HD, Hölzenbein T, et al. The melatonin receptor subtype MT2 is present in the human cardiovascular system. *J Pineal Res.* 2003;35:40-4.
  56. Ekmekcioglu C, Haslmayer P, Philipp C, Mehrabi MR, Glogar HG, Grimm M, et al. 24h variation in the expression of the mt1 melatonin receptor subtype in coronary arteries derived from patients with coronary heart disease. *Chronobiol Int.* 2001;18:973-85.
  57. Ekmekcioglu C, Haslmayer P, Philipp C, Mehrabi MR, Glogar HD, Grimm M, et al. Expression of the MT1 melatonin receptor subtype in human coronary arteries. *J Recept Signal Transduct Res.* 2001;21:85-91.
  58. Dubocovich ML, Markowka M. Functional MT1 and MT2 melatonin receptors in mammals. *Endocrine.* 2005;27:101-10.
  59. Ebisawa T, Uchiyama M, Kajimura N, Kamei Y, Shibui K, Kudo Y, et al. Genetic polymorphisms of human melatonin 1b receptor gene in circadian rhythm sleep disorders and controls. *Neurosci Lett.* 2000;280:29-32.
  60. Ebisawa T, Kajimura N, Uchiyama M, Katoh M, Sekimoto M, Watanabe T, et al. Allelic variants of human melatonin 1a receptor: function and prevalence in subjects with circadian rhythm sleep disorders. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999;262:832-7.
  61. García-Moll X, Kaski JC. Cardiopatía isquémica: marcadores de inflamación y riesgo cardiovascular. *Rev Esp Cardiol.* 1999;52:990-1003.
  62. Pérez Fernández R, Kaski JC. Interleucina-10 y enfermedad coronaria. *Rev Esp Cardiol.* 2002;55:738-50.
  63. García-Moll X. Fisiopatología y marcadores del síndrome coronario agudo sin elevación del segmento ST. *Rev Esp Cardiol Supl.* 2005;5:8C-14C.

64. Reiter RJ, Calvo JR, Karbownik M, Qi W, Tan DX. Melatonin and its relation to the immune system and inflammation. *Ann N Y Acad Sci.* 2000;917:376-86.
65. Carrillo-Vico A, Guerrero JM, Lardone PJ, Reiter RJ. A review of the multiple actions of melatonin on the immune system. *Endocrine.* 2005;27:189-200.
66. Brugger P, Marktl W, Herold M. Impaired nocturnal secretion of melatonin in coronary heart disease. *Lancet.* 1995;345:1408.
67. Sakotnik A, Liebmann P, Stoschitzki K, Lercher P, Schauenstein K, Klein W, et al. Decreased melatonin synthesis in patients with coronary artery disease. *Eur Heart J.* 1999;20:1314-7.
68. Girotti L, Lago M, Ivanovsky O, Elizari MV, Lloret SP, Albornoz LE, et al. Low urinary 6-sulfatoxymelatonin levels in patients with severe congestive heart failure. *Endocrine.* 2003;22:245-8.
69. Altun A, Yaprak M, Aktöz M, Vardar A, Betül UA, Olzbay G. Impaired nocturnal synthesis of melatonin in patients with cardiac syndrome X. *Neurosci Lett.* 2002;327:143-5.
70. Domínguez-Rodríguez A, Abreu-Gonzalez P, García M, Sánchez J, Marrero F, Armas-Trujillo D. Decreased nocturnal melatonin levels during acute myocardial infarction. *J Pineal Res.* 2002;33:248-52.
71. Reiter RJ, Tan DX. Melatonin: a novel protective agent against oxidative injury of the ischemic / reperfused heart. *Cardiovasc Res.* 2003;58:10-9.
72. Reiter RJ, Tan DX, Manchester LC, Qi W. Biochemical reactivity of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species: a review of the evidence. *Cell Biochem Biophys.* 2001;34:237-56.
73. Cuzzocrea S, Zingarelli B, Gilad E, Hake P, Salzman AL, Szabo C. Protective effect of melatonin in carrageenan-induced models of local inflammation: relationship to its inhibitory effect on nitric oxide production and its peroxynitrite scavenging activity. *J Pineal Res.* 1997;23:106-16.
74. Domínguez-Rodríguez A, Abreu-Gonzalez P, García-González M, Ferrer-Hita J, Vargas M, Reiter RJ. Elevated levels of oxidized low-density lipoprotein and impaired nocturnal synthesis of melatonin in patients with myocardial infarction. *Atherosclerosis.* 2005;180:101-5.
75. García-Moll X. Marcadores de inflamación y de antiinflamación en el síndrome coronario agudo: ¿listos para usarlos en la práctica clínica? *Rev Esp Cardiol.* 2005;58:615-7.
76. Rodríguez JA, Orbe J, Páramo JA. Metaloproteasas, remodelado vascular y síndromes aterotrombóticos. *Rev Esp Cardiol.* 2007;60:959-67.
77. Domínguez Rodríguez A, Abreu González P, García González MJ, De la Rosa A, Vargas M, Marrero F. Ritmo luz / oscuridad de las citocinas proinflamatorias en el infarto agudo de miocardio. *Rev Esp Cardiol.* 2003;56:555-60.
78. Domínguez Rodríguez A, Abreu González P, García M, Ferrer J, De la Rosa A, Vargas M, et al. Light / dark patterns of interleukin - 6 in relation to the pineal hormone melatonin in patients with acute myocardial infarction. *Cytokine.* 2004;26:89-93.
79. Domínguez Rodríguez A, García González MJ, Abreu González P. [Light/dark cycle variations in proinflammatory cytokines in acute coronary syndromes]. *Rev Esp Cardiol.* 2004;57:1250.
80. Domínguez Rodríguez A, García González MJ, Abreu González P, Ferrer J, Kaski JC. Relation of nocturnal melatonin levels to C-reactive protein concentration in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 2006;97:10-2.
81. Domínguez Rodríguez A, Kaski JC, Abreu-González P, García González MJ. Cinética de la proteína C reactiva: importancia del ritmo luz/oscuridad de la proteína C reactiva en el síndrome coronario agudo. *Rev Esp Cardiol.* 2006;59:1204-5.
82. Domínguez-Rodríguez A, Abreu-Gonzalez P, García-Gonzalez MJ, Reiter RJ. Relation of nocturnal melatonin levels to serum matrix metalloproteinase-9 concentrations in patients with myocardial infarction. *Thromb Res.* 2007;120:361-6.
83. Domínguez-Rodríguez A, Kaski JC, Abreu-Gonzalez P, García-Gonzalez MJ. [The kinetics of metalloproteinase-9: the significance of the light-dark cycle in metalloproteinase-9 in acute coronary syndrome]. *Rev Esp Cardiol.* 2008;61:327.
84. Domínguez-Rodríguez A, Abreu-Gonzalez P, García-Gonzalez MJ, Samimi-Fard S, Kaski JC, Reiter RJ. Light/dark patterns of soluble vascular cell adhesion molecule-1 in relation to melatonin in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *J Pineal Res.* 2008;44:65-9.
85. Vilar-Rojas C, Guzmán-Grenfell AM, Hicks JJ. Participation of oxygen-free radicals in the oxido-reduction of proteins. *Arch Med Res.* 1996;27:1-6.
86. Férrez Santander SM, Márquez MF, Peña Duque MA, Ocaranza Sánchez R, De la Peña Almaguer E, Eid Lidt G. [Myocardial reperfusion injury]. *Rev Esp Cardiol.* 2004;57 Supl 1:9-21.
87. De Scheerder IK, VandeKraay AMM, Lamers JMJ, Koster JF, De Jong JF, Serruys PW. Myocardial malondialdehyde and uric acid release after short-lasting coronary occlusions during coronary angioplasty: potential mechanisms for free radical generation. *Am J Cardiol.* 1991;68:392-5.
88. Sahna E, Omez E, Acet A. Effects of physiological and pharmacological concentrations of melatonin on ischemia-reperfusion arrhythmias in rats: Can the incidence of complete sudden cardiac death be reduced? *J Pineal Res.* 2002;32:194-8.
89. Sahna E, Acet A, Ozer MK, Olmez E. Myocardial ischemia-reperfusion in rats: reduction of infarct size by either supplemental physiological or pharmacological doses of melatonin. *J Pineal Res.* 2002;33:234-8.
90. Kaneko S, Okumura K, Numaguchi Y, Matsui H, Murase K, Moruno S, et al. Melatonin scavenges hydroxyl radical and protects isolated rat hearts from ischemic reperfusion injury. *Life Sci.* 2000;67:101-12.
91. Sahna E, Parlakpinar H, Turkoz Y, Acet A. Protective effects of melatonin on myocardial ischemia/reperfusion induced infarct size and oxidative changes. *Physiol Res.* 2005;54:491-5.
92. Lagneux C, Joyeux M, Demenge P, Ribuot C, Godin-Ribuot D. Protective effects of melatonin against ischemia-reperfusion injury in the isolated rat heart. *Life Sci.* 2000;66:503-9.
93. Bardaji A, Alonjo J, García-Moll X, Bueno H. [Ischemic heart disease: 2005 update]. *Rev Esp Cardiol.* 2006;59 Supl 1:3-19.
94. Domínguez-Rodríguez A, Abreu-Gonzalez P, García-Gonzalez MJ, Samimi-Fard S, Reiter RJ, Kaski JC. Association of ischemia-modified albumin and melatonin in patients with ST-elevation myocardial infarction. *Atherosclerosis.* 2008;199:73-8.
95. Dugo L, Serriano I, Fulia F, De Sarro A, Caputi AP, Cuzzocrea S. Effect of melatonin on cellular energy depletion mediated by peroxynitrite and poly (ADP-ribose) synthetase activation in an acute model of inflammation. *J Pineal Res.* 2001;31:76-84.
96. Zhang H, Squadrito GL, Pryor WA. The reaction of melatonin with peroxynitrite: Formation of melatonin radical cation and absence of stable nitrated products. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998;251:83-7.
97. Blanchard B, Pompon D, Ducrocq C. Nitrosation of melatonin by nitric oxide and peroxynitrite. *J Pineal Res.* 2000;29:184-92.
98. Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. *J Biomed Sci.* 2000;7:444-58.
99. Urata Y, Honma S, Goto S, Todoroki S, Lida T, Cho S, et al. Melatonin induces  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase mediated by activator protein-1 in human vascular endothelial cells. *Free Radic Biol Med.* 1999;27:838-47.
100. Acuña-Castroviejo D, Martin M, Macías M, Escames G, Leon J, Khaldy H, et al. Melatonin, mitochondria and cellular bioenergetics. *J Pineal Res.* 2001;30:65-74.
101. Reiter RJ, Tan DX, Manchester LC, El-sawi MR. Melatonin reduces oxidant damage and promotes mitochondrial respiration: implications for aging. *Ann N Y Acad Sci.* 2002;959:238-50.
102. Lee BJ, Parrot KA, Ayre JW, Sack RL. Preliminary evaluation of transdermal delivery of melatonin in human subjects. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol.* 1994;85:337-46.
103. Van de Heuvel C, Kennaway DJ, Dawson D. Effects of daytime melatonin infusion in young adults. *Am J Physiol.* 1998;275:E19-26.
104. Van de Heuvel C, Kennaway DJ, Dawson D. Thermoregulatory and soporific effects of very low dose melatonin injection. *Am J Physiol.* 1999;39:E249-54.
105. Mallo C, Zaidan R, Galy G, Vermeulen E, Brun J, Chazot G, et al. Pharmacokinetics of melatonin in man after intravenous infusion and bolus injection. *Eur J Clin Pharmacol.* 1990;38:297-301.
106. Claustrat B, Loisy C, Brun J, Beorchia S, Arnaud JL, Chazot G. Nocturnal plasma melatonin levels in migraine: a preliminary report. *Headache.* 1989;29:241-4.
107. Seabra ML, Bignotto M, Pinto LR Jr, Tufik S. Randomized, double-blind clinical trial, controlled with placebo, of the toxicology of chronic melatonin treatment. *J Pineal Res.* 2000;29:193-200.

108. Nishiyama K, Yasue H, Moriyama Y, Tsunoda R, Ogawa H, Yoshimura M, et al. Acute effects of melatonin administration on cardiovascular autonomic regulation in healthy men. *Am Heart J*. 2001;141:E9-13.
109. Gitto E, Romeo C, Reiter RJ, Impellizzeri P, Pesce C, Basile M, et al. Melatonin reduce oxidative stress in surgical neonates. *J. Pediatric Surgery*. 2004;39:184-9.
110. Gitto E, Reiter RJ, Cordano SP, La Rosa M, Chiurazzi P, Trimarchi G, et al. Oxidative and inflammatory parameters in respiratory distress syndrome of preterm newborns: beneficial effects of melatonin. *Am J Perinatol*. 2004;21:209-16.
111. Gitto E, Reiter RJ, Amodio A, Cuzzocrea E, Sabatino G, Buonocore J, et al. Early indicators of chronic lung disease in preterm infants with respiratory distress syndrome and their inhibition by melatonin. *J Pineal Res*. 2004;36:250-5.
112. Dominguez-Rodriguez A, Abreu-Gonzalez P, Garcia-Gonzalez MJ, Kaski JC, Reiter RJ, Jimenez-Sosa A. A unicenter, randomized, double-blind, parallel-group, placebo-controlled study of Melatonin as an Adjunct in patients with acute myocardial Infarction undergoing primary Angioplasty The Melatonin Adjunct in the acute myocardial Infarction treated with Angioplasty (MARIA) trial: study design and rationale. *Contemp Clin Trials*. 2007;28:532-9.