



**Universitat**  
de les Illes Balears

## **TRABAJO DE FIN DE GRADO**

# **LA MELATONINA EN EL ALZHEIMER Y OTRAS ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS**

**Paula Venegas González**

**Grado de Biología**

**Facultad de Ciencias**

**Año Académico 2020-21**

# LA MELATONINA EN EL ALZHEIMER Y OTRAS ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

**Paula Venegas González**

**Trabajo de Fin de Grado**

**Facultad de Ciencias**

**Universidad de las Illes Balears**

**Año Académico 2020-21**

Palabras clave del trabajo:

Melatonina, terapia, prevención, enfermedad neurodegenerativa, estrés oxidativo, ritmos circadianos, Alzheimer, Parkinson, Huntington, Esclerosis lateral amiotrófica

*Nombre Tutor/Tutora del Trabajo Susana Cristina Esteban Valdés*

*Nombre Tutor/Tutora (si procede)*

Se autoriza la Universidad a incluir este trabajo en el Repositorio Institucional para su consulta en acceso abierto y difusión en línea, con fines exclusivamente académicos y de investigación

| Autor                               |                          | Tutor                               |                          |
|-------------------------------------|--------------------------|-------------------------------------|--------------------------|
| Sí                                  | No                       | Sí                                  | No                       |
| <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

## **Resumen**

El número de personas que padecen enfermedades neurodegenerativas cada vez es mayor, destacando el Alzheimer como la más incidente, por ello surge la necesidad de poder encontrar una terapia que mejore la calidad de vida de los pacientes. Estas enfermedades se caracterizan por el deterioro cognitivo debido a la destrucción de neuronas de manera selectiva. Varios estudios demuestran que el fenómeno fisiopatológico de neurodegeneración común a todas ellas es el estrés oxidativo ocasionado por la acumulación de radicales libres y la consecuente apoptosis celular; y demuestran que la melatonina posee propiedades neuroprotectoras para frenar o ralentizar la progresión de éstas debido a sus acciones antiapoptóticas, antioxidantes y antiinflamatorias. Además, la mayoría de estudios realizados con modelos de animales tanto in vivo como in vitro, sobre todo en ratas, apoyan el uso de la melatonina como tratamiento de prevención para las principales enfermedades neurodegenerativas. Este trabajo explica el papel protector que ejerce la melatonina principalmente sobre la enfermedad de Alzheimer y de manera secundaria, en la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Huntington y la Esclerosis lateral amiotrófica. En el Alzheimer, se ha demostrado que la melatonina reduce la formación de placas amiloides y la hiperfosforilación de Tau, además de mejorar la calidad de sueño y regular los ritmos circadianos disminuyendo así el riesgo de neuroinflamación. Sin embargo, hoy en día se siguen necesitando más estudios para probar la eficacia clínica de la administración de la melatonina en estos trastornos.

## **Abstract**

The number of people suffering from neurodegenerative diseases is increasing, with Alzheimer's disease standing out as the most common one, thus the need to find a therapy to improve the quality of life of patients. These diseases are characterized by cognitive impairment due to the selective destruction of neurons. Several studies show that the pathophysiological phenomenon of neurodegeneration common to all of them is oxidative stress caused by the accumulation of free radicals and the consequent cellular apoptosis; and demonstrate that melatonin has neuroprotective properties to stop or slow down the progression of these diseases due to its anti-apoptotic, antioxidant and anti-inflammatory actions. In addition, most studies performed with animal models both in vivo and in vitro, especially in rats, support the use of melatonin as a preventive treatment for major neurodegenerative diseases. This work explains the protective role of melatonin mainly in Alzheimer's disease and secondarily in Parkinson's disease, Huntington's disease and amyotrophic lateral sclerosis. In Alzheimer's disease, melatonin has been shown to reduce the formation of amyloid plaques and Tau hyperphosphorylation, as well as to improve sleep quality and regulate circadian rhythms, thus reducing the risk of neuroinflammation. However, today more studies are still needed to prove the clinical efficacy of melatonin administration in these disorders.

## **Índice**

|  |    |
|--|----|
| 1. ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA.....   | 5  |
| 2. INTRODUCCIÓN.....   | 7  |
| 2.1 La melatonina.....   | 7  |
| 2.2 Síntesis y regulación.....   | 7  |
| 2.3 Mecanismos de acción.....  | 8  |
| 2.4 Funciones.....   | 9  |
| 2.5 Efectos de la melatonina conn la edad.....                                     | 10 |
| 3. LA MELATONINA EN ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS.....                           | 11 |
| 3.1 Enfermedad de Alzheimer (EA).....  | 11 |
| 3.2 Enfermedad de Parkinson (EP).....  | 12 |
| 3.3 Enfermedad de Huntington (EH).....   | 13 |
| 3.4 Esclerosis lateral amiotrófica (ELA).....                                      | 14 |
| 4. LA MELATONINA COMO TERAPIA PREVENTIVA DEL ALZHEIMER.....                        | 15 |
| 4.1 El papel de la melatonina en la hiperfosforilación de TAU.....                 | 15 |
| 4.2 El papel de la melatonina en la toxicidad de los agregados beta-amiloides..... | 17 |
| 4.3 El papel de la melatonina en el sistema colinérgico.....                       | 18 |
| 4.4 El papel de la melatonina en la neuroinflamación.....                          | 19 |
| 4.5 El papel de la melatonina en la regulación de ritmos circadianos.....          | 20 |
| 5. CONCLUSIONES.....   | 20 |
| 6. BIBLIOGRAFÍA.....   | 21 |

## 1. ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA

Se realizó una revisión bibliográfica de la literatura publicada sobre el papel de la melatonina en las enfermedades neurodegenerativas, fundamentalmente en la Enfermedad de Alzheimer y como secundarias, las enfermedades de Huntington, Parkinson y Esclerosis lateral amiotrófica. La búsqueda se efectuó principalmente en la base de datos Pubmed. Se introdujeron las palabras siempre en inglés y por ello todos los artículos encontrados estaban publicados en inglés. La búsqueda de artículos no se basó en acotar un plazo de años sino en la información que proporcionaba cada artículo según el número de citas que presentaban (a través de la página scopus), pero no como la característica más importante a la hora de seleccionar el artículo. Se empezó con una búsqueda preliminar de las palabras “melatonina”, “función”, “síntesis” y “regulación” que aparecieran en el título y se obtuvieron alrededor de 22.000 resultados. Por lo tanto se seleccionaron los 10 más citados y los que más se adecuaban al tema a desarrollar. Además se tuvieron en cuenta los artículos que no tenían estricta relación con el objetivo pero si aportaban información relevante. A partir de los artículos seleccionados, se extrajeron ideas que los autores de éstos habían cogido de otros artículos.

Se realizó otra búsqueda más centrada en el objetivo que era la melatonina en el Alzheimer. Se usaron las palabras “melatonin and Alzheimer’s disease” y se obtuvieron 614 resultados. Lo mismo se realizó con las otras enfermedades neurodegenerativas. Se obtuvieron 69 con la enfermedad de Huntington, 384 con la de Parkinson y 32 con la Esclerosis lateral amiotrófica. Se llevó a cabo el mismo proceso mencionado anteriormente, seleccionando 10 artículos más citados y teniendo en cuenta artículos que no tenían estricta relación. Por ello, este trabajo se ha centrado en el Alzheimer puesto que es la enfermedad más estudiada, con mayor prevalencia y consecuentemente con mayor interés social y sanitario.

Podemos observar como desde el año 1990 hasta el 2021, poniendo en Pubmed las palabras “melatonin” and “neurodegenerative disease” el número de publicaciones de Alzheimer ha ido aumentando con el paso de los años (con 20 publicaciones anuales), y presenta un número más elevado en comparación con el resto de enfermedades (Figura 1). Luego le sigue la enfermedad de Parkinson, con 12 publicaciones por año aproximadamente, destacando que el número de publicaciones ha decaído en varias ocasiones. La siguiente es la de Huntington, con 2 estudios al año y por último le continúa la Esclerosis lateral amiotrófica, que solo hay publicaciones a partir del año 1999 (Tabla 1).

| <b>Enfermedades neurodegenerativas</b> | <b>Media ± Desviación típica</b> |
|--|----------------------------------|
| Enfermedad de Alzheimer                | 19,16 ± 13,9                     |
| Parkinson                              | 11,19 ± 9,26                     |
| Huntington                             | 2 ± 2,16                         |
| Esclerosis lateral amiotrófica         | 1,19 ± 1,26                      |

Tabla 1. La media y desviación típica del número de publicaciones por año en los últimos 30 años de cada una de las enfermedades neurodegenerativas.

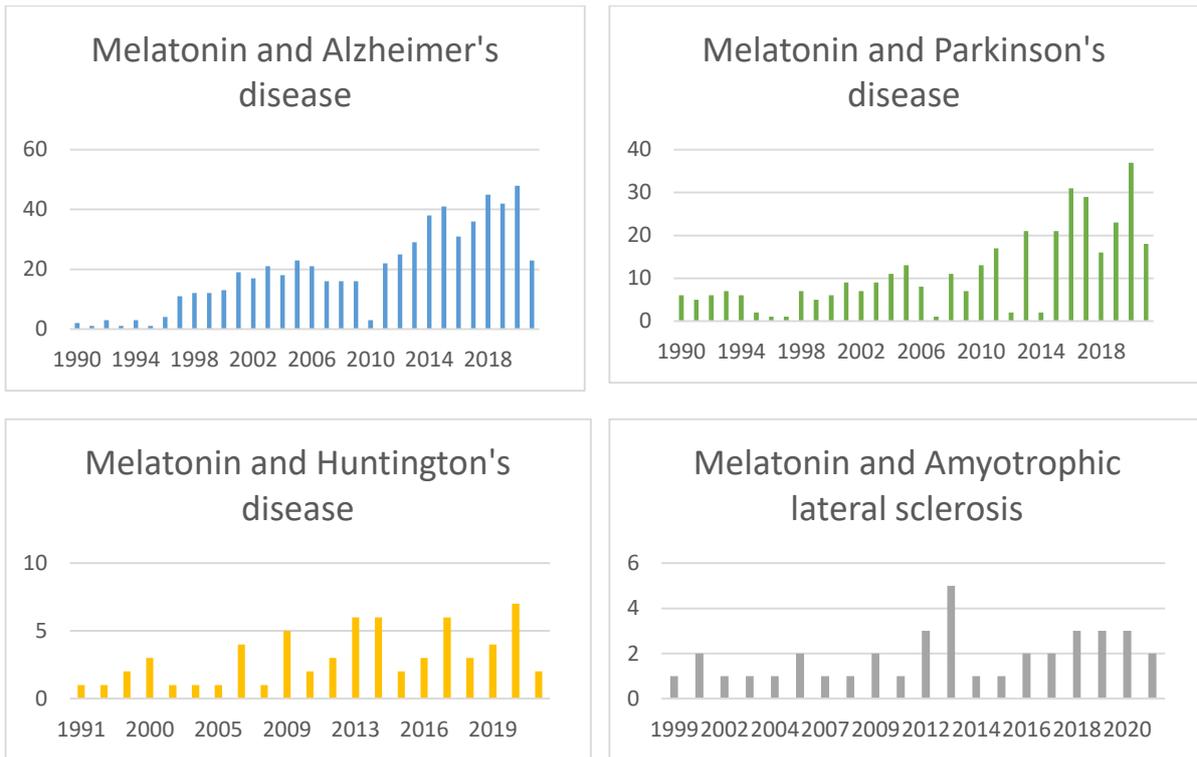
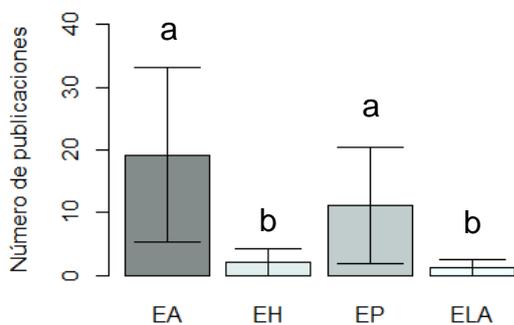


Figura 1. Gráficos que muestran la evolución de los estudios publicados a lo largo de los últimos 30 años hasta el año actual de cada una de las enfermedades neurodegenerativas.

Para poder analizar estadísticamente la diferencia de publicaciones anuales que existe entre las cuatro enfermedades a lo largo de los últimos 30 años, se ha realizado un análisis no paramétrico Kruskal-Wallis por falta de normalidad. Al obtener un p-valor significativo, podemos concluir que las medias no son iguales. Para determinar qué medias son significativamente diferentes de cuáles, se llevó a cabo el test a posteriori Dunn (no paramétrico). Como resultado, se obtuvo que había diferencias entre las enfermedades de Alzheimer y Parkinson con las otras dos. Pero entre ellas mismas no existen diferencias significativas (Gráfica 1).



Gráfica 1. Publicación media de artículos científicos desde el 1990-2021 en cada una de las enfermedades neurodegenerativas. EA=Alzheimer, EH= Huntington, EP= Parkinson, ELA= Esclerosis lateral amiotrófica. Barra de error= Desviación típica.

## 2. INTRODUCCIÓN

### 2.1 La melatonina

La melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) es una molécula ubicua altamente conservada a lo largo de la evolución que se encuentra en casi todos los organismos vivos. Existe desde hace 3 mil millones de años y estructuralmente fue identificada en 1958 (Lerner *et al.*, 1958). Es una indolamina con características anfifílicas de difusión (Amaral y Cipolla-Neto, 2018). En los vertebrados, la melatonina es sintetizada principalmente por la glándula pineal, actuando como hormona con acciones endocrinas. La mayoría de esta hormona será liberada directamente al líquido cefalorraquídeo (LCR) del tercer ventrículo cerebral y desde éste se distribuye por el tejido nervioso circundante. Sin embargo, su síntesis no depende exclusivamente de esta glándula, sino que otros órganos y tejidos como los linfocitos, la médula ósea, los ojos y el tracto gastrointestinal entre otros, son capaces también de sintetizarla y liberarla a la sangre permitiendo que llegue a todos los tejidos del organismo. (Amaral y Cipolla-Neto, 2018). Esto explica que las ratas, aunque hayan sido pinealectomizadas, sigan presentando niveles bajos de melatonina. (Tan *et al.*, 1999).

Su síntesis en mamíferos está programada por el núcleo supraquiasmático hipotalámico (SCN) y sincronizada con el ciclo luz/oscuridad debido a las células ganglionares fotosensibles intrínsecas de la retina, cuyas proyecciones al SCN transmitirán la información fotoperiódica del entorno, de modo que la producción de la melatonina se limita a la fase oscura, ya que la luz (principalmente en la gama del azul) activa la descomposición de la melanopsina en las células ganglionares fotorreceptoras de la retina que se proyectan, a través de la vía retinohipotalámica, al hipotálamo, inhibiendo la síntesis de melatonina (Amaral y Cipolla-Neto, 2018). Así mismo, se ha comprobado que la exposición a luz artificial durante la noche suprime también la liberación de melatonina (Alghamdi, 2018). La secreción de melatonina varía a lo largo del año, ya que se ha comprobado que la presencia de la melatonina en el plasma sanguíneo es mayor en las noches de invierno, al ser más largas, que en las noches de verano. De esta manera se describe a la melatonina como un representante del fotoperiodo ambiental en el medio interno, que de alguna forma controla la fisiología del organismo durante las 24 horas del día (Amaral y Cipolla-Neto, 2018)

### 2.2 Síntesis y regulación

La glándula pineal es una glándula neuroendocrina epitalámica que contiene las células productoras de melatonina llamadas pinealocitos, además de astrocitos y otras células. En primer lugar, la retina del ojo absorbe la luz que emite una señal y pasa a través del tracto retinohipotalámico hasta el SCN, Después, esta señal pasa a los núcleos paraventriculares y luego a la columna intermediolateral de la médula espinal, y finalmente llega al ganglio cervical superior (SCG). Con la ayuda de la norepinefrina, neurotransmisor liberado desde las fibras simpáticas postganglionares, el SCG transfiere la señal a la glándula pineal y sintetiza la melatonina a partir de su precursor, la serotonina (Hossain *et al.*, 2019). Una cantidad insuficiente de norepinefrina puede llevar a sintetizar menos melatonina, y un exceso de norepinefrina implica todo lo contrario provocando que la persona esté despierta (Stehle *et al.*, 2011). Brevemente, la norepinefrina interactúa con los receptores noradrenérgicos clásicos beta y alfa en la membrana de los pinealocitos y activa las vías AMPc-PKA-CREB y PLC-Ca<sup>2+</sup>-PKC para desencadenar la síntesis de melatonina (Amaral y Cipolla-Neto, 2018).

Desde el punto de vista bioquímico, la síntesis de melatonina se inicia con el triptófano, aminoácido esencial que se encuentra en el torrente sanguíneo de forma natural (Alghamdi, 2018). Bajo la acción

de la triptófano hidroxilasa, se transforma en 5-hidroxitriptófano que, a su vez, se convierte en serotonina, que es acetilada, por la arilalquilamina N-acetiltransferasa (AANAT) a N-acetilserotonina (NAS) que se convierte por la acetilserotonina O-metiltransferasa (ASMT) en melatonina. Las tres enzimas mencionadas están bajo el control de los sistemas neural y endocrino que regulan el tiempo, la duración y la cantidad de melatonina producida. El mayor control lo ejerce el sistema circadiano, principalmente los núcleos supraquiasmáticos hipotalámicos, que como se ha mencionado anteriormente, cronometran la síntesis de melatonina para que se produzca diariamente en sincronía con el ciclo luz/oscuridad, produciéndose sólo por la noche, siempre que ésta sea oscura (Amaral y Cipolla-Neto, 2018).

El folato (ácido fólico) es esencial en el paso de metilación de la conversión de la N-acetilserotonina en melatonina y por ello la deficiencia de éste disminuye la liberación de melatonina en ratas (Fournier *et al.*, 2002). Además, la vitamina B6 (piridoxina) desempeña un papel importante en la descarboxilación del triptófano y aumenta la liberación de melatonina en los niños, pero no en los adultos (Muñoz-Hoyos *et al.*, 1996; Luboshitzky *et al.*, 2002).

Debido a la naturaleza anfifílica de la melatonina, no se almacena en el interior de los pinealocitos, sino que se libera a medida que se sintetiza. La glándula pineal está muy vascularizada y su unión a la pared del tercer ventrículo permite que la melatonina se libere en el LCR del sistema nervioso central durante la noche, así como en el torrente sanguíneo. En la sangre, la melatonina suele unirse a la albúmina, se metaboliza en 6-hidroxi melatonina por isoformas del citocromo P450 y se conjuga en 6-sulfatoxi melatonina en el hígado, para su posterior excreción urinaria. La producción de 6-sulfatoxi melatonina refleja perfectamente los niveles plasmáticos de melatonina, por lo que su medición urinaria es un método menos intrusivo para evaluar la producción de melatonina y la función pineal (Amaral y Cipolla-Neto, 2018). En el sistema nervioso central, la melatonina se degrada a N-acetil-N2-formil-5-metoxicinuramina (AFMK) que se transforma en N-acetil-5-metoxicinuramina (AMK) (Hardeland, 2017). Tanto AFMK como AMK se consideran potentes antioxidantes con la capacidad de eliminar los radicales libres (Hardeland *et al.*, 2005).

### **2.3 Mecanismos de acción**

El funcionamiento y las propiedades de la melatonina dependen de los receptores específicos sobre los que actúa. Existen dos tipos de receptores de melatonina, los de membrana acoplados a proteínas G y los receptores nucleares (RZR/ROR). En los mamíferos hay dos tipos de receptores de membrana, MT1 y MT2. En el caso de los humanos, son MTNR1A y MTNR1B. Estos receptores cuando se activan, interactúan con los mensajeros descendentes como la adenilil ciclasa, la fosfolipasa A2 y la fosfolipasa C, disminuyendo generalmente la producción de adenosín monofosfato cíclico (AMPC) y aumentando la formación de diacilglicerol y trifosfato de inositol (IP3). En concreto, MT1 actúa mediante la activación de diferentes proteínas G relacionadas en cascadas de señalización mientras que MT2 participa en funciones relacionadas con el ritmo circadiano (Balmik y Chinnathambi, 2018). Los receptores MT1 y MT2 se encuentran en casi todos los tejidos periféricos, así como en el sistema nervioso central (Amaral y Cipolla-Neto, 2018), y conducen a los efectos fisiológicos y fisiopatológicos de la melatonina en los trastornos de sueño, ansiedad, dolor y enfermedades neurodegenerativas (Pandi-Perumal *et al.*, 2008; Comai *et al.*, 2014). Recientemente, hay un tercer sitio de unión de la melatonina, inicialmente llamado "MT3", que fue caracterizado posteriormente como la enzima quinona reductasa 2 (Nosjean *et al.*, 2000). Esta enzima pertenece a un grupo de reductasas que participan en la protección contra el estrés oxidativo impidiendo las reacciones de transferencia de electrones de las quinonas (Seithikurippu *et al.*, 2008) sin embargo, se conocen poco los efectos mediados por este receptor.

También la melatonina es capaz de entrar en el núcleo de la célula e interactuar con el factor de transcripción relacionado con los receptores nucleares ROR/RZR (receptores huérfanos de retinoides/receptores Z de retinoides) (Jockers *et al.*, 2016). Esta interacción lleva a cabo un papel importante en la modulación inmunológica y en la regulación de enzimas antioxidantes a través de ROR $\alpha$  (Carlberg, 2006).

## **2.4 Funciones**

La melatonina puede desempeñar diversas funciones. Una de ellas sería la regulación de los ritmos circadianos de la mayoría de los animales en función de los ciclos de luz y oscuridad. Ejerce efectos en la disminución de la alteración circadiana controlando la transcripción y traducción de “genes reloj”. Aumenta los niveles de expresión del criptocromo 2 (CRY2), el homólogo de la proteína circadiana del periodo 1 (PER1) y el músculo cerebral ARNT-like 1 (BMAL1) que están asociadas a enfermedades neurodegenerativas (Dongmei *et al.*, 2000). La melatonina al controlar estos genes, proteínas que inhiben o refuerzan funciones en ciclos de 24 horas, actúa como un sincronizador interno de los ciclos circadianos. (Amaral y Cipolla-Neto, 2018).

La melatonina tiene efectos antiinflamatorios y antiapoptóticos disminuyendo la inflamación patógena mediante la regulación de varias vías, como la disminución de secreción de citoquinas proinflamatorias al inhibir el factor nuclear kappa B (Rosales-Corral *et al.*, 2003). Además, inhibe la expresión de la ciclooxigenasa-2 (COX-2) que es un factor proinflamatorio en las enfermedades neurodegenerativas (Yokota *et al.*, 2003). Asimismo, suprime la apoptosis mediante la modulación de Bcl2/Bax y la reducción de la expresión y actividad de la caspasa-3. Esto sugiere que la melatonina regula la función apoptótica en la protección contra el cáncer y las patologías neurodegenerativas (Jang *et al.*, 2005).

La melatonina destaca por su gran capacidad de eliminar los radicales libres y sus funciones antioxidantes. En las mitocondrias, en la transferencia de electrones de la cadena respiratoria se pierden algunos electrones reduciendo las moléculas de O<sup>2</sup> en el anión superóxido (O<sup>2-</sup>). Este agente oxidante forma el peróxido de hidrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) que se transformará en un radical hidroxilo (OH) en presencia de metales. Esto causa la formación de radicales libres y otras especies reactivas de oxígeno (ROS) que son muy tóxicas para las moléculas que se encuentran cerca de donde éstos se producen. Su producción excesiva provoca la muerte celular y un consecuente estrés oxidativo. Este proceso se lleva a cabo en la mitocondria, por ello la síntesis de melatonina es muy eficaz para reducir el daño mitocondrial gracias a su capacidad antioxidante (Reiter *et al.*, 2014). Además, la estructura química de la melatonina explica su capacidad para neutralizar los radicales protegiendo así del daño oxidativo a las proteínas, lípidos y al ADN, debido a la presencia de un anillo aromático indol rico en electrones que funcionará como donador de éstos (Reiter *et al.*, 2009).

Aparte, regula aumentando la expresión y la actividad de enzimas antioxidantes, como la glutatión peroxidasa (GPX), la superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa (CAT) (Rodríguez *et al.*, 2004) e inhibiendo la síntesis de enzimas pro-oxidantes, como la 5-lipooxigenasa, la 12-lipooxigenasa y la óxido nítrico sintasa (Jin y El-Deiry, 2005). Estudios han demostrado que la melatonina se une al hierro sintetizado endógenamente de manera efectiva para inactivarlo y de esta manera provocar la inhibición de la reacción de Fenton, que consiste en la producción de un radical libre y un ión hidroxilo (OH) por cada molécula de hierro que se oxida. Por lo tanto, al bloquear la reacción se evita una sobreproducción de ROS (Friedlander, 2003).

No solo las mitocondrias juegan un papel importante en el estrés oxidativo, el retículo endoplasmático (RE), es el principal almacén de iones de calcio. Una alteración en su acumulación provoca estrés

oxidativo en el orgánulo. Además, en una situación de estrés, influirá en la síntesis de proteínas ya que es su principal función y habrá una acumulación de proteínas mal plegadas que provocará la liberación de los iones calcio, su acumulación en las mitocondrias y el aumento de las ROS, lo que conlleva a un prolongado estrés oxidativo en el RE. La melatonina, debido a sus propiedades antioxidantes, ejerce la modulación de la respuesta RE al estrés (Fernández *et al.*, 2015)

La melatonina junto a sus metabolitos, AFMK y AMK, como se ha mencionado anteriormente, se consideran potentes antioxidantes con la capacidad de eliminar los radicales libres (Hardeland *et al.*, 2005) al reaccionar con las ROS y las especies reactivas de nitrógeno (RNS), y se les conoce como la cascada antioxidante. Esta reacción en cascada no sólo aumenta la eficacia de la melatonina como antioxidante, también su espectro de eliminación de radicales libre. Así, la melatonina puede eliminar una variedad de ROS y RNS, incluyendo el radical hidroxilo, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sup>2-</sup>, oxígeno singlete, NO, NOO<sup>-</sup>, radical hipoclorito, LOO<sup>-</sup>, etc (Tan *et al.*, 2000)

Además de su cascada antioxidante, otra característica importante de la melatonina es su deducibilidad en caso de estrés oxidativo moderado o de condiciones ambientales desfavorables. Se observó hace décadas que el frío en ratas, provocó que se estresaran y aumentaran su producción de melatonina a través de una elevada actividad de la AANAT para igualar los estresores externos (Stokkan *et al.*, 1991). Por último, también se ha demostrado que tiene un efecto protector contra el cáncer, la epilepsia y los trastornos neurodegenerativos bloqueando el estrés oxidativo in vivo e in vitro (Gupta *et al.*, 2004; He *et al.*, 2018).

## **2.5 Efectos de la melatonina con la edad**

La secreción de la melatonina experimenta cambios a lo largo de la vida. Generalmente, se libera durante el primer año de vida con un nivel muy bajo hasta alcanzar su máximo entre el primer y tercer año. Seguido de una disminución del 80% entre los 15 y 20 años, debido probablemente al aumento de la talla de cuerpo aunque se siga sintetizando constantemente después de la infancia (Díaz López, 2001). Durante las décadas siguientes siguen disminuyendo los niveles moderadamente hasta los 70-90 años (Waldhauser *et al.*, 1988). Este descenso se debe a alteraciones relacionadas con la edad en los sistemas neuronales cerebrales que regulan la actividad pineal como las señales serotoninérgicas o catecolaminérgicas que recibe el SCN. Cualquier alteración en estas vías repercute en la síntesis de la melatonina desde la glándula pineal (Díaz López, 2001). Además de estas consecuencias, existen varias causas como el descenso del número total de pinealocitos (Humbert y Pevet, 1995), la oxidación de los precursores de la melatonina como 5-HT (Lerchl, 1994) y la calcificación de la glándula pineal y la consecuente alteración de la homeostasis del calcio en el pinealocito (Schmidt *et al.*, 1994), entre otras.

El ser vivo obtiene la energía a partir de la oxidación de compuestos energéticos contenidos en los alimentos. Esta utilización del oxígeno produce radicales libres, que son cualquier átomo o molécula que contengan un electrón desapareado convirtiéndolo en altamente reactivo, cuya acumulación de éstos puede contribuir a la aparición de enfermedades neurodegenerativas (Reiter *et al.*, 2014). El estrés oxidativo es una consecuencia de la formación de radicales libres (Díaz López, 2001). El daño subcelular acumulado por estrés oxidativo durante la vida puede aumentar con el envejecimiento (Harman *et al.*, 1994) al ser la melatonina, una atrapadora de radicales con actividad antioxidante (Díaz López, 2001), la cual va disminuyendo con la edad.

Está demostrado que la suplementación con melatonina aumenta la vida útil en varias especies, como el *Paramecium tetraurelia* y *Drosophila melanogaster* (Thomas y Smith-Sonneborn, 1997; Bonilla et al., 2002). Incluso, un estudio demostró que la administración de melatonina a animales envejecidos aumentaba su esperanza de vida en casi un 20% (Steeves et al., 1999). Esto se debe a que la melatonina aumenta la expresión de la "proteína de la longevidad" sirtuina 1 (SIRT1) que desencadena la expresión de una serie de genes de autocuración (Simonneaux et al., 2004).

### **3. LA MELATONINA EN ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS**

#### **3.1 Enfermedad de Alzheimer**

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa progresiva asociada a la edad, de etiología desconocida que afecta alrededor de 35 millones de personas en todo el mundo (Campbell et al., 2001). Es la forma más común de demencia, representando un 50-75% aproximadamente de todos los casos (Prince et al., 2009) y la causa de la senilidad prematura. Se estima que en 2030 el número de enfermos incrementará hasta 65'7 millones y en 2050 llegará incluso hasta 115'4 millones de personas a causa de una población cada vez más longeva, principalmente en países desarrollados gracias a la mejora de calidad de vida, sanidad moderna y accesible para todos (Tyrovolas et al., 2011) pero sin tratamientos efectivos. Un estudio colaborativo encontró una prevalencia del 4,4% en personas mayores de 65 años, siendo así el envejecimiento el principal factor de riesgo para la mayoría de las enfermedades neurodegenerativas.

La EA se caracteriza por deterioro mental progresivo, pérdida de memoria, la capacidad de tomar decisiones y otras manifestaciones neuroconductuales ya que suceden ciertos eventos neuropatológicos y neuroquímicos (procesos neuroinflamatorios, estrés oxidativo, activación del sistema inmune, entre otros) que conducen a la destrucción de circuitos neuronales (Seabra et al., 2000).

Las características histopatológicas de la EA incluyen la formación de placas seniles extracelulares (PS), por acúmulo de péptidos beta-amiloideos ( $A\beta$ ), solubles en la pared de los vasos que forman la circulación sanguínea en el cerebro; y ovillos neurofibrilares intracelulares (NFT), formación de agregados de microtúbulos debido a la hiperfosforilación anormal de la proteína tau, encargada de estabilizar el citoesqueleto de las células, en condiciones normales (Ittner y Götz, 2011). Otra característica neuropatológica observada en los pacientes con EA es la disminución de melatonina en suero y líquido cefalorraquídeo (LCR) y la pérdida del ritmo diurno de secreción. Este hallazgo está relacionado con los estadios de Braak (Zhou et al., 2003) que clasificaron la EA en 6 estadios diferentes según su progresión clínico-patológica. Se vio que cuanto más avanzado era el estadio de Braak (V-VI), menor era la concentración de melatonina en el LCR (Liu et al., 1999).

Estudios post-mortem han mostrado que los niveles de melatonina ya están reducidos, tanto en la glándula pineal como en el LCR, en pacientes con EA preclínica (pacientes que no presentan alteración cognitiva pero si los primeros síntomas de la neuropatología) (Wu et al., 2003). Aunque la glándula de los pacientes presenta cambios moleculares, no se observan cambios en el peso, en el contenido total de proteínas ni calcificaciones (Friedland et al., 1990). Sin embargo, hay una fuerte correlación entre el contenido pineal y el nivel de melatonina en el LCR (Wu et al., 2003) y entre los niveles de melatonina en el LCR y en el plasma (Wu y Swaab, 2005), lo que sugiere que puede servir como marcador temprano de las primeras etapas de la EA.

Otro descubrimiento patológico en estos pacientes es la disminución de la inmunoreactividad del MT2 y un aumento de ella del MT1 en el hipocampo (Savaskan *et al.*, 2002; Savaskan *et al.*, 2005). También se ha demostrado que el ARNm del receptor  $\beta$ 1-adrenérgico desaparece, y que la actividad y expresión génica de la monoaminoxidasa (MAO) aumenta en los pacientes con EA, provocando una disfunción colinérgica en el SNC y una disminución de la serotonina, precursora de la melatonina, siendo responsables de la pérdida del ritmo y la reducción de los niveles de melatonina en la EA (Wu *et al.*, 2007).

Estos fenómenos neuropatológicos han permitido postular una serie de hipótesis causales de esta enfermedad, desempeñando el papel más importante en la promoción de la degeneración neuronal, la toxicidad producida por A $\beta$ , al provocar mayor vulnerabilidad en las neuronas frente al aumento del estrés oxidativo y deterioro en el metabolismo energético de las células (ambos relacionados con el envejecimiento) (Selkoe, 2004). Otra teoría que también ha cobrado fuerza, es la hiperfosforilación de Tau, ya mencionada anteriormente, como la principal proteína encargada de estabilizar el ensamblaje de los microtúbulos. Al verse reducida esta función debido a la hiperfosforilación, provoca una alteración en la disposición del citoesqueleto que conduce a la formación de NFTs (Ballatore *et al.*, 2007; Spiros-Jones *et al.*, 2009). A mayor número de NFTs, más severa será la demencia que presente el paciente, por ello la extensión de la patología neurofibrilar esta correlacionada positivamente con la gravedad de la demencia (Braak *et al.*, 1994).

### **3.2 Enfermedad de Parkinson (EP)**

La EP es el segundo trastorno neurodegenerativo más común después de la EA y que ocurre con más frecuencia en personas mayores (Singhal *et al.*, 2011) y se diagnostica en aproximadamente el 1% de las personas con 65 años (Miller y O'Callaghan, 2015). La enfermedad presenta tanto síntomas motores como bradicinesia, rigidez, temblor en reposo y desequilibrio postural; como síntomas no motores, como estreñimiento, disminución del sentido del olfato, problemas de sueño y deterioro cognitivo (Dauer y Przedborski, 2003).

Las características histopatológicas del EP son la pérdida y degeneración progresiva de las neuronas dopaminérgicas en la vía estriada nigral dando a lugar a un agotamiento de la dopamina (Dop) y la aparición de Cuerpos de Lewy, inclusiones citoplasmáticas formadas principalmente por  $\alpha$ -sinucleína fibrilar (SNCA) (Dauer y Przedborski, 2003), proteína citoplasmática que regula la síntesis de Dop, su almacenamiento en vesículas, su liberación en las sinapsis y recaptación en las neuronas dopaminérgicas (Sidhu, 2004). También se ha observado que la reducción de niveles de MT1 y MT2 en la amígdala y la sustancia negra del cerebro conduce a la EP (Adi *et al.*, 2010). Varios estudios con modelos de ratón con EP confirman que la melatonina inhibe o reduce el estrés oxidativo y la apoptosis (Singhal *et al.*, 2010), además de la disfunción mitocondrial y los déficits neuroconductuales (Patki y Lau, 2011) al incrementar los niveles de dopamina. Además, se ha descubierto que varias mutaciones de la SNCA, contribuyen a la EP esporádica (Krüger *et al.*, 1998). Brito-Armas *et al.*, demostraron que la melatonina disminuye la pérdida de neuronas dopaminérgicas resultantes de la SNCA mutante (Brito-Armas *et al.*, 2013). Sin embargo, se informó de que un desequilibrio de melatonina y Dop desencadena la EP (Willis, 2008). Además, se demostró que un antagonista del receptor de la melatonina mejoraba la disfunción motora en ratas (Willis, 2005).

La autofagia desempeña un papel importante en la patogénesis de la EP (Lynch-Day *et al.*, 2012). La melatonina atenuó la neurotoxicidad disminuyendo la autofagia inducida por MPTP (inductor de la EP) y también la formación de fibrillas de  $\alpha$ -sinucleína mediante la inhibición de CDK5 en monos (Su *et al.*,

2015). También muchos estudios demuestran que la suplementación de melatonina mejoró la calidad de sueño pero no mejoró los síntomas motores (Medeiros *et al.*, 2007). Y algunos estudios, aunque son escasos, que han evaluado el papel de la melatonina en la neuroinflamación de la EP, informan que evita el aumento de la iNOS (óxido nítrico sintasa inducible) en ratones con EP inducida por MPTP (López *et al.*, 2017). Y además, su administración disminuyó significativamente la actividad de la COX-2 (ciclooxigenasa tipo 2, implicada en la neuroinflamación) en la EP inducida por MPTP en ratones (Ortiz *et al.*, 2013).

Aunque cada vez haya más evidencia que documenta que la melatonina tiene una gran influencia en la EP, se siguen necesitando más estudios para aclarar estas contradicciones comentadas. No obstante, el campo de investigación avanza muy rápido y todo apunta a que en un futuro podría ser un tratamiento eficaz en etapas tempranas de la enfermedad.

### **3.3 Enfermedad de Huntington**

La EH o también conocida como Corea de Huntington es un trastorno neurodegenerativo autosómico dominante provocado por la expansión de un triplete de citosina-adenina-guanina (CAG) en el gen que codifica para la proteína Huntingtina (HTT), cuyas funciones de esta proteína aún se desconocen (Ross y Tabrizi, 2011). En el gen normal, esta secuencia se repite entre 11 y 29 veces mientras que en el gen mutante se producen más de 80 repeticiones (Escribano *et al.*, 2014). La HTT mutada es altamente tóxica y provoca muerte neuronal selectiva en el estriado con la consecuente pérdida de neuronas GABAérgicas que expresan receptores D2 (los que forman parte de la vía inhibitoria del complejo nigroestriatal). Al estar afectada esta vía, dominará la vía excitadora D1 del complejo, que es lo que dará lugar a la hipercinesia coreica típica de esta patología (Walker, 2007). La HTT, a su vez, produce una disminución de la producción de ATP ya que varias enzimas que intervienen en el ciclo del ácido tricarbóxico resultan ser afectadas, daños en el ADN mitocondrial y alteración de la estabilidad de las membranas celulares por el aumento de ROS derivado de la inhibición de las enzimas de la cadena de transporte de electrones (Ross y Tabrizi, 2011). Además varios estudios sugieren que el gen mutado que codifica para la HTT adopta una conformación anómala. La concentración en suero de dicha proteína anómala podría ser usada como marcador de diagnóstico precoz de EH en un futuro (Walker, 2007).

Los síntomas de la EH se caracterizan por aparecer de manera tardía entre los 40-50 años de edad y provocan movimientos coreicos (involuntarios, esporádicos y bruscos que empiezan afectando por las extremidades y acaban siendo generalizados) (Tobin y Signer, 2000) sufriendo un deterioro motor progresivo, trastornos psiquiátricos (ansiedad, depresión, agresividad, cambios de personalidad), déficit cognitivo, problemas de sueño y disfagia con la consecuente pérdida de peso (Ross y Tabrizi, 2011; van der Burg *et al.*, 2009). Histopatológicamente, los pacientes presentan atrofia en varias estructuras del SNC como la corteza cerebral, la sustancia blanca subcortical, el tálamo, etc. Desde el punto de vista microscópico, la patología se identifica por las inclusiones intranucleares formadas por la HTT anómala agregada que se pueden encontrar en el núcleo de las neuronas, citoplasma, dendritas y terminaciones de los axones (Van der Burg *et al.*, 2009).

Los pacientes con EH presentan en el plasma los niveles de melatonina reducidos en comparación con personas sanas (Kalliolia *et al.*, 2014). Actualmente, no existe ningún tratamiento para la cura de esta enfermedad pero varios estudios experimentales mencionan que la melatonina podría ser un tratamiento eficaz para evitar el progreso de ésta. Se realizó un examen a un modelo genético de ratón para EH, en el que se pudo observar que la melatonina prolongaba la vida de estos animales retrasando el inicio de la enfermedad (Wang *et al.*, 2011). La melatonina tiene efectos protectores contra la apoptosis neuronal

provocada por el ácido cainico que puede producir una patología similar a EH in vivo e in vitro (Xue *et al.*, 2017; Tan *et al.*, 1998). Además, se utilizó ácido 3-nitropropiónico (3-NP) para imitar la patología in vivo e in vitro y se administró melatonina, viendo como inhibía el estrés oxidativo y el daño neuronal (Túnez *et al.*, 2004; Mu *et al.*, 2014).

Se ha informado que una de las principales patologías de la EH es la disfunción mitocondrial (Mocher y Haller, 2011). Un estudio demostró que los niveles de MT1 estaban más reducidos en ratones con EH que en ratones de tipo salvaje. Además, la administración de melatonina exógena redujo la muerte celular neuronal inducida por esta disfunción junto con la activación del receptor MT1 en un modelo celular mutante de HTT (Wang *et al.*, 2011). Otro mecanismo dependiente de la disfunción de las mitocondrias es el aumento de concentración intracelular de  $Ca^{2+}$  desplazándose a través del canal del receptor de N-metil-d-aspartato (NMDA) (Ruiz *et al.*, 2010). También, se conoce que la producción del poro de transición de permeabilidad mitocondrial (mPTP) provoca la muerte celular (Leung y Halestrap, 2008). Por lo tanto, unos investigadores demostraron que la melatonina disminuye el aumento de calcio intracelular inducido por el receptor NMDA mediante la inhibición de la actividad mPTP en las neuronas del estriado del ratón (Andrabi *et al.*, 2004). Asimismo, la melatonina tiene la capacidad de proteger frente la apoptosis neuronal inducida por la disfunción mediante la regulación de proteínas pro o antiapoptóticas (Wang, 2009). Mohseni *et al.*, vieron que la melatonina protegía a los linfocitos de la irradiación gamma producida por el aumento de los niveles de Bcl-2 y la disminución de la expresión de Bax (disminuyendo la relación Bax-Bcl-2) provocando así su apoptosis (Mohseni *et al.*, 2012). En el momento que los niveles de Bcl-2 bajan o al tratar las neuronas con luzindole (antagonista del receptor MT1/MT2), el efecto antiapoptótico de la melatonina disminuye (Radogna *et al.*, 2008). A todo esto, el papel de la melatonina en la EH aún no está del todo claro, pero por sus efectos antioxidantes, antiapoptóticos y neuroprotectores que acabamos de nombrar, demuestran que podría tener un impacto en la enfermedad y llegar a evitar su progreso neurodegenerativo disminuyendo la gravedad de los síntomas.

### **3.3 Esclerosis lateral amiotrófica (ELA)**

La ELA es una enfermedad mortal que se caracteriza por la degeneración progresiva de motoneuronas, debido a una fuerte desmielinización del asta anterior de la médula espinal afectando tanto a la primera como a la segunda neurona (Jacob *et al.*, 2002) que provoca debilidad muscular, fatiga inusual, alteración en la coordinación de las extremidades, dificultad para hablar, que a medida que avanza la enfermedad se desencadena en una parálisis muscular, incluso provoca la muerte. Desde el punto de vista fisiopatológico, se conocen tres mecanismos en la enfermedad: (a) mutaciones en el gen de la SOD-1, dando lugar a una mayor toxicidad en las células con mayor reactividad hacia sustratos anormales y una peor habilidad para unirse al zinc, generando así una menor capacidad antioxidante de la SOD-1; (b) niveles elevados de glutamato en el LCR junto la pérdida de transportadores excitables de aminoácidos generando excitotoxicidad; (c) mutaciones en genes que codifican para neurofilamentos del citoesqueleto, que hacen que éstos sufran modificaciones oxidativas y se acumulen de manera anormal y provoquen la degeneración de las motoneuronas. (Jacob *et al.*, 2002; Pandi-Perumal *et al.*, 2012).

A día de hoy no se dispone de ningún tratamiento prometedor que cambie el curso clínico de la enfermedad. Si bien es verdad que el único compuesto que ha conseguido aumentar el tiempo de supervivencia ligeramente es el Riluzol, una anti-excitotoxina. Al igual que todas las enfermedades que hemos mencionado hasta ahora, el estrés oxidativo parece ser uno de los principales implicados en la muerte celular de la ELA, por lo que se propuso la melatonina como estrategia terapéutica para combatir la enfermedad por sus efectos antioxidantes. Por ejemplo, vieron que en pacientes con ELA

tenían los niveles de carbonilos proteicos circulantes (marcador de estrés oxidativo) muy elevados, pero éstos se normalizaron con la administración de la melatonina, atenuando así la neurodegeneración y progresión de la enfermedad (Zhang *et al.*, 2013)

Se ha informado que la melatonina no sólo frena la progresión y prolonga la esperanza de vida de la ELA eficazmente, sino que también inhibe de manera significativa la muerte de las motoneuronas mediante la inactivación de la vía de la caspasa-1/citocromo c/caspasa-3 en un modelo de ratón transgénico para ELA con la SOD-1 mutada (G93A) (elevando así su expresión) (Zhang *et al.*, 2013). Además, también consigue al aumentar la expresión de SOD-1, la eliminación de la acumulación anormal de los neurofilamentos evitando así la pérdida de neuronas motoras.

Dado que no hay ningún estudio que indique efectos negativos tras la administración de la melatonina incluso a largo plazo, se podría utilizar como profilaxis para tratar a aquellos pacientes con riesgo a desarrollar la ELA.

#### **4. LA MELATONINA COMO TERAPIA PREVENTIVA DEL ALZHEIMER**

En párrafos anteriores, se ha descrito que la melatonina debido fundamentalmente a sus propiedades antioxidantes, resulta ser útil para retrasar el avance de todas las enfermedades neurodegenerativas analizadas en esta revisión. Se prevé que para el año 2050 habrá unas 150 millones de personas con algún tipo de enfermedad neurodegenerativa, la mayoría Alzheimer. Por ello, es importante encontrar tratamientos efectivos para aliviar síntomas y detener la progresión de la patología (Fish *et al.*, 2019) a fin de mejorar la calidad de vida y el bienestar de los pacientes (Duncan, 2019). Nos centraremos en la EA por haber más información publicada al respecto, y tener mayor incidencia.

La investigación sobre futuros tratamientos sobre el Alzheimer se centra en retrasar o detener la formación de ovillos neurofibrilares y de placas de agregados beta-amiloides. Además, un diagnóstico temprano y un tratamiento a tiempo es vital para tratar esta patología (Weller y Budson, 2018). Cerca de la mitad de los pacientes con Alzheimer presentan alteraciones del sueño. Por ello, la melatonina podría actuar combinando propiedades muy útiles: mejorando la calidad del sueño y regulando los ritmos circadianos, más su uso como protector celular, consecuentemente disminuye el riesgo de neuroinflamación y de agregados beta-amiloides, lo que retrasa la aparición del Alzheimer, mejora por tanto la memoria y la cognición (Zisapel, 2018) y puede disminuir la velocidad en la que se desarrolla la enfermedad (Duncan, 2020).

A continuación, se hablará con detalle del papel neuroprotector de la melatonina que ejerce sobre la hiperfosforilación de Tau, la toxicidad de A $\beta$ , el sistema colinérgico, neuroinflamación y los ritmos circadianos, que también intervienen en la patogénesis de la EA.

##### **4.1 El papel de la melatonina en la hiperfosforilación de Tau**

Tau es una proteína que participa en la estabilización del citoesqueleto de los microtúbulos y en la promoción del ensamblaje de los mismos (Ittner y Götz, 2011). La hiperfosforilación de tau impide la unión de Tau a los microtúbulos, alterando así su estabilidad. La Tau hiperfosforilada provoca la formación de NFTs mediante la agregación de ésta a filamentos helicoidales emparejados (PHFs) con conformaciones anormales (Ballatore *et al.*, 2007; Spires-Jones *et al.*, 2009)

La Tau hiperfosforilada se ha encontrado en más de una docena de trastornos neurodegenerativos, denominados tauopatías, incluyendo la EA, la enfermedad de Niemann-Pick tipo C, etc. Entre estos trastornos relacionados con la tau, la EA es la tauopatía más común y mejor estudiada. En los cerebros de la EA, el nivel de la Tau hiperfosforilada es 3-4 veces mayor que el de la Tau de los cerebros adultos normales. Hay 79 residuos serina- treonina en la secuencia de Tau del cerebro humano, de los cuales más de 30 sitios fosforilados han sido identificados en la EA (Lin *et al.*, 2013).

La inhibición de la hiperfosforilación de Tau se ha considerado un objetivo en el tratamiento de la EA. Se ha descubierto que la melatonina es capaz de reducir eficazmente la hiperfosforilación de Tau inducida por la wortmannina (Deng *et al.*, 2005), la caliculina A (CA) (Yang *et al.*, 2010) y el ácido okadaico (Wang *et al.*, 2004) en las células de neuroblastoma N2a y SH-SY5Y. Se demostró que la melatonina también mejoraba significativamente la hiperfosforilación de Tau provocada por el isoproterenol (Wang *et al.*, 2004) y la iluminación constante en ratas (Ling *et al.*, 2009).

Además, se ha demostrado que varias proteínas tanto quinasas como fosfatasa intervienen en la fosforilación y regulación de tau. Un desequilibrio de las mismas, provocan la formación de los ovillos neurofibrilares de la EA (Ferrer *et al.*, 2005). Tras los resultados del estudio de Lin y colaboradores realizado en el año 2013, comprobaron que el tratamiento con melatonina no sólo inhibe la activación de la glucógeno sintasa quinasa-3 (GSK-3) inducida por la wortmannina, la activación de la proteína quinasa A (PKA) inducida por el isoproterenol y la inactivación de la proteína fosfatasa-2A (PP-2A) inducida por la CA, sino que también disminuyó el daño oxidativo inducido por estas proteínas (Deng *et al.*, 2005; Avila, 2000; Gong *et al.*, 2004) demostrando así el potente efecto inhibitorio de la melatonina sobre la hiperfosforilación de tau. Otro de los experimentos llevados a cabo durante este estudio (Lin *et al.*, 2013) consistió en la inyección cerebral de haloperidol, un inhibidor de la 5-hidroxiindol-O-metiltransferasa (enzima clave de la síntesis de la melatonina) en ratas. Con la inhibición de la biosíntesis de la melatonina, provocaron la pérdida de memoria espacial y un aumento de la fosforilación de Tau mediante la disminución de la actividad de la PP-2A. La consecuente suplementación de melatonina previa a la realización del experimento durante una semana y durante el periodo de administración de haloperidol, mejoró el déficit de memoria y recuperó la actividad de la PP-2A parando la hiperfosforilación de Tau y el estrés oxidativo (Lin *et al.*, 2013). También utilizaron la luz constante para detener la síntesis de melatonina en ratas, provocando los mismo efectos que en el experimento anterior, además de la activación de GSK-3 y PKA junto con la eliminación de la fosfoproteína fosfatasa (PP-1). Además, provocó múltiples daños en orgánulos como la reducción en el número de vesículas del retículo endoplasmático entre otras, dando lugar a la formación de sinapsis más delgadas y un aumento de la superóxido dismutasa (SOD) y la monoamino oxidasa (MAO). La suplementación simultánea de melatonina detuvo parcialmente estas alteraciones moleculares (Lin *et al.*, 2013).

Recientemente, se ha descubierto que la melatonina se une de manera directa a la proteína quinasa asociada a la muerte 1 (DAPK1) promoviendo la degradación de esta a través de la vía ubiquitina-proteosoma, dando lugar a un aumento de la actividad de Pin1, una peptidil prolil cis/trans isomerasa con efectos protectores sobre la patología relacionada con Tau, por lo que reducirá la hiperfosforilación de Tau (Chen *et al.*, 2020). Lo que sugiere que el eje melatonina-DAPK1-Pin 1 regula la EA (Wang *et al.*, 2020).

Aunque no está claro si la disminución de la concentración de melatonina es uno de los factores causales de la patología de la EA o sólo un proceso secundario, el conjunto de los resultados expuestos anteriormente, demuestran fuertemente la eficacia importante que presenta la melatonina en la disminución del deterioro de la memoria espacial tipo Alzheimer y la hiperfosforilación de tau.

#### **4.2 El papel de la melatonina en la toxicidad de los agregados beta-amiloides**

El A $\beta$ , es un fragmento compuesto por 39-43 residuos de aminoácidos, resultado de la escisión de su precursora, la proteína precursora amiloide (APP). Desempeña un papel importante en la patogénesis de la EA al promover la degeneración neuronal (Selkoe, 2004). La APP madura puede ser dividida por dos vías diferentes que daran lugar o no a la amiloidogénesis (Selkoe, 1998). La vía no amiloidogénica implica el corte de la APP dentro de la secuencia A $\beta$  por la  $\alpha$ -secretasa para liberar un fragmento de APP terminal N, que, a su vez, es cortado por la  $\gamma$ -secretasa, impidiendo la formación de A $\beta$ . En cambio, la vía amiloidogénica es activada por la  $\beta$ -secretasa, que da lugar a la formación del péptido A $\beta$  intacto. En este mecanismo intervienen tanto la  $\beta$ -secretasa como la  $\gamma$ -secretasa, encargadas de la escisión de los terminales C y N acotando la secuencia que forma el péptido A $\beta$  (Fisher *et al.*, 2003).

Se ha descubierto que la melatonina es capaz de inhibir la secreción de APP soluble (APPs) en diferentes líneas celulares al interrumpir la maduración completa de la propia APP. Además, se ha visto que la administración de melatonina exógena inhibe eficazmente la producción y agregación de A $\beta$  tanto in vivo como in vitro (Lahiri, 1999).

Sin embargo, un estudio in vivo realizado en el 2003 en ratones transgénicos Tg2576 de 14 meses de edad, la administración de melatonina en altas concentraciones no afectó a la expresión de APP ni eliminó las placas existentes y el depósito adicional de A $\beta$  (Quinn *et al.*, 2005). En cambio, no se obtuvo el mismo resultado que en el de un estudio realizado tanto en ratones de tipo salvaje (normales) como Tg2576, tratados con melatonina, donde se observó una disminución de A $\beta$  y la nitración de proteínas (Matsubara *et al.*, 2003). Esta diferencia que existe entre estos dos estudios tratados con el mismo modelo transgénico podría explicarse debido al momento de inicio del experimento, ya que las placas amiloides suelen aparecer en estos ratones entre los 10 y 12 meses de edad (Hsiao *et al.*, 1996) y el estudio de Quinn y colaboradores se inició cuando los ratones ya tenían 14 meses de edad a diferencia del estudio de Matsubara y colaboradores que tenían 4 meses, una edad más temprana. Por lo tanto, estos resultados indican que la melatonina tiene la capacidad de prevenir la formación de placas amiloides y regular el metabolismo del APP en una edad temprana, pero no es capaz de ejercer estos efectos antiamiloides o antioxidantes cuando el tratamiento se inicia una vez se ha producido la deposición de A $\beta$  en el SNC.

Otra de las funciones que es capaz de llevar a cabo la melatonina, es la reducción de la acumulación de agregados beta-amiloides a través de la inactivación de la glucógeno sintasa quinasa 3 (GSK-3 $\beta$ ), enzima clave en la síntesis de APP, que activada, provoca la fosforilación de la proteína Tau, un deterioro sináptico y déficits de memoria ((Peineau *et al.*, 2007; Jo *et al.*, 2011). La melatonina actúa a través de su receptor MT2 e inactiva la GSK-3 $\beta$  fosforilándola, tras una cascada de señalización. Por lo tanto, la melatonina no sólo disminuye la formación de A $\beta$  sino que también reduce la hiperfosforilación de Tau (Rosales-Corral *et al.*, 2012) y el deterioro cognitivo (Peineau *et al.*, 2007; Jo *et al.*, 2011).

Por otra parte, los puentes de sal imidazol-carboxilato formados por las cadenas laterales de los residuos de aspartato e histidina son importantes para la formación de la lámina  $\beta$  amiloide (Jackson Huang *et al.*, 1997). Los resultados obtenidos mediante técnicas de imagen (espectroscopia de RMN) han confirmado que la melatonina interactúa específicamente con cualquiera de los tres residuos de histidina y aspartato de A $\beta$  (Pappolla *et al.*, 1998), por ello es capaz de interrumpir estos puentes salinos y consecuentemente impedir la formación de agregados A $\beta$  y la fibrilación convirtiendo las láminas  $\beta$  en

espirales aleatorias. Al cambiar la conformación de las láminas  $\beta$ , la melatonina no sólo está reduciendo la neurotoxicidad sino que también facilita la eliminación del péptido (Lin *et al.*, 2013).

Las placas amiloides depositadas en el cerebro generan muchos efectos nocivos para las neuronas relacionados con el estrés oxidativo como el aumento de calcio libre intracelular y la peroxidación lipídica, daño oxidativo en el ADN mitocondrial y aparición de marcadores apoptóticos con el fin último de provocar la muerte celular (Pacchierotti *et al.*, 2001). El propio estrés oxidativo estimula la formación de  $A\beta$ , ya que puede activar la vía amiloidogénica, aumentando así su producción a partir de la APP y en consecuencia la producción de radicales libres por parte de las mitocondrias (Bieschke *et al.*, 2005). Estos orgánulos a parte de ser los responsables de la síntesis de las ROS, también son el lugar de ataque de estas especies reactivas. La melatonina es capaz de estabilizar las membranas internas mitocondriales mediante su unión a ellas (Yuan y Pang, 1991). El daño causado en la membrana producido por las ROS provoca un aumento del calcio intracelular, que a su vez este aumento induce una mayor generación de radicales libres. Por lo tanto, el estrés oxidativo desempeña un papel fundamental en la neurotoxicidad causada por  $A\beta$ .

Además la combinación de  $A\beta$  y la apoproteína E4 (apoE4) aumentan de manera conjunta la neurotoxicidad de  $A\beta$ . Sin embargo, la melatonina puede prevenirlo mediante interacciones con la apoE4 (Poeggeler *et al.*, 2001). En modelos animales inducidos por  $A\beta$ , la melatonina reduce su producción y evita la apoptosis al disminuir la actividad de la caspasa-3 y aumentar la expresión del linfoma de células B-2 (Bcl-2) en el cerebro (Jang *et al.*, 2005; Feng y Zhang, 2005). Por tanto, todas estas evidencias sugieren que la melatonina podría llegar a convertirse en un tratamiento eficaz para la EA por sus propiedades antioxidantes y antiapoptóticas.

#### **4.3 El papel de la melatonina en el sistema colinérgico**

La gran cantidad de sinapsis colinérgicas en el tálamo, el cuerpo estriado, el sistema límbico y el neocórtex sugiere que la transmisión colinérgica es de gran importancia para la memoria, el aprendizaje y otras funciones cerebrales superiores. Por ello, el sistema colinérgico del cerebro desempeña un papel central en las investigaciones en curso relacionadas con la cognición normal y el deterioro cognitivo relacionado con la edad, incluidas las demencias (Hampel *et al.*, 2018)

Las alteraciones en el sistema colinérgico son también una característica neuropatológica de la EA (Struble *et al.*, 1982). Las personas que padecen EA presentan degeneradas de manera profunda y selectiva las neuronas del núcleo basal de Meynert, un conjunto de neuronas ricas en acetilcolina (ACh) y colina acetiltransferasa (ChAT) que se encuentran en la cara basal del cerebro con largas proyecciones hasta la corteza cerebral y el hipocampo, por tanto una fuente principal de inervación colinérgica (Coyle *et al.*, 1983; Rasool *et al.*, 1986). El nivel de ACh se encuentra ya reducido en la etapa inicial de la EA, mientras que los niveles de la ChAT (enzima sintetizadora de la ACh) y la acetilcolinesterasa (enzima hidrolizadora de ACh) no varían hasta la etapa final de la enfermedad (Davis, 1999; Terry *et al.*, 2003). Otro dato interesante fue hallado tras examinar varias muestras de tejido nervioso procedentes de biopsias, en las que encontraron una fuerte disminución de la actividad de ACh en el neocórtex de pacientes con EA. Dicha reducción está correlacionada positivamente con la gravedad de la demencia (Bieschke *et al.*, 2005). Aunque se desconoce el mecanismo por el cual conduce a la disminución de ACh, se usan inhibidores de la acetilcolinesterasa (AChE) para corregirlo. Han demostrado eficacia y actualmente se utilizan como fármacos para tratar la enfermedad en casos leves-moderados (Spencer *et al.*, 2010).

La melatonina presenta efectos protectores sobre el sistema colinérgico. Un estudio ha demostrado que puede prevenir de manera parcial la inhibición del transporte de colina y la actividad de la ChAT en varias proteínas neuronales (Guermónprez *et al.*, 2001). Además, también se demostró que el tratamiento con melatonina durante cuatro meses en ratones transgénicos de ocho meses de edad que presentaban deposición de A $\beta$  en SNC, déficit de memoria y para el aprendizaje y una reducción severa de la actividad de ChAT en la corteza frontal y el hipocampo, mejoró significativamente fenómenos neuropatológicos, conductuales y bioquímicos (Feng *et al.*, 2004). Otro estudio con un tratamiento similar, informó que la melatonina mejoraba el déficit de memoria espacial y evitaba disminuciones en la actividad de la ChAT en ratas adultas ovariectomizadas (Feng *et al.*, 2004). Sin embargo, otro estudio con ratas a las que se les inyectó A $\beta$  en los ventrículos cerebrales durante 14 días donde la actividad de ChAT se redujo significativamente, se vio que la melatonina no pudo recuperar la actividad de dicha enzima (Tang *et al.*, 2002). En este experimento, la melatonina únicamente fue eficaz inhibiendo la actividad de la AChE inducida por lipopolisacáridos (LPS). Estos resultados apoyan la función inhibitoria de la melatonina sobre la actividad de la AChE en la demencia (Agrawal *et al.*, 2009). Sin embargo, no hay evidencias clínicas que afirmen que con la melatonina como tratamiento para la EA se obtengan mejores resultados que con los inhibidores de la colinesterasa, como la galantamina, tacrina, el donepezilo y la galantamina (estabilizan o ralentizan el deterioro de la cognición, función, comportamiento y el cambio global). Aunque si es cierto que la combinación de ambos fármacos produce efectos mucho más beneficiosos actuando sinérgicamente (Lin *et al.*, 2013). Se diseñaron y sintetizaron híbridos de tacrina-melatonina como nuevos fármacos multifuncionales para la EA y mostraron propiedades colinérgicas y antioxidantes más potentes y selectivas que actuando de manera individual (Fernandez-Bachiller *et al.*, 2009; Spuch *et al.*, 2009).

#### **4.4 El papel de la melatonina en la neuroinflamación**

Otro factor común que ocurre en la EA es la sobreactivación de las células de la microglía con la consecuente sobreexpresión de las citoquinas proinflamatorias (Arends *et al.*, 2000; Mrak y Griffin, 2004). La acumulación de agregados beta-amiloides producen fenómenos inflamatorios y excitotoxicidad, causando neurodegeneración y consecuentemente deterioro cognitivo (Hardy y Higgins, 1992). Por tanto A $\beta$  actúa como agente proinflamatorio influyendo sobre las estructuras del SNC como la microglía y astrocitos, mencionado anteriormente (Park *et al.*, 2012). Estudios epidemiológicos demuestran que el uso de antiinflamatorios no esteroideos (AINE) reduce el efecto de la EA (Stuchbury y Munch, 2004).

El papel de la melatonina que presenta en este caso, es la reducción de las respuestas microgliales y astrogiales producidas por el ácido cainico. Se ha detectado mediante la proteína ácida fibrilar glial (GFAP) y la isolectina-B4, unos marcadores específicos de los astrocitos y las células de la microglía, respectivamente (Chung y Han, 2003). También se ha demostrado que disminuye en un 50% aproximadamente los niveles de citoquinas proinflamatorias inducidas por A $\beta$  (Interleucina-1- $\beta$  (IL1- $\beta$ ), Interleucina-6 (IL6) y el factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in vivo (Rosales-Corral *et al.*, 2003), reduciendo así la respuesta inflamatoria y consecuentemente mejorando el deterioro cognitivo.

#### **4.5 El papel de la melatonina en la regulación de los ritmos circadianos**

La neurodegeneración de la EA no solo se centra en la función cognitiva, sino que también afecta a procesos fisiológicos clave, como la alimentación y el sueño. Estos dos procesos pueden servir como biomarcadores para diagnosticar la enfermedad en etapa temprana (Ahmed *et al.*, 2018). La relación que existe entre las enfermedades neurodegenerativas y el sueño es bidireccional, es decir, la neurodegeneración se acompaña de dificultades para dormir debido a la alteración de los ritmos circadianos como la secreción de la melatonina. Y a la inversa, el sueño inadecuado tanto en calidad como en duración, agrava la neurodegeneración (Mazzotti *et al.*, 2014). Varios estudios han demostrado que la interrupción del sueño contribuye a la neuropatología. Además, aumenta la formación de placas beta-amiloides en el LCR. Se realizó un estudio in vivo en ratones transgénicos, en donde se pudo observar como la privación del sueño provocaba un aumento en los niveles de A $\beta$  en el líquido intersticial cerebral (ISF), estableciendo así una relación directa entre la vigilia y A $\beta$ . Las inyecciones de orexina, principal neuropéptido que promueve el estado de vigilia, provocaron aumento de A $\beta$ , en cambio el antagonista de la orexina, los disminuyó (Kang *et al.*, 2009).

Un síntoma que emerge como resultado de la alteración de los ritmos circadianos es el “sundowning”, un fenómeno cronobiológico que crea ansiedad cuando cae el sol, observado en los pacientes con EA junto con el de sueño y vigilia. La administración de melatonina y la exposición a la luz brillante en fases circadianas seleccionadas mejoraron los patrones de sueño y vigilia y moderaron el “sundowning” en pacientes con EA (Riemersma van der Lek, 2008).

Se ha demostrado que el ritmo circadiano en la secreción de melatonina resulta ser el responsable del ritmo sueño/vigilia tanto en personas con vista normal como en ciegos (sin efecto sincronizador de la luz) (Skene y Arendt, 2007).

### **5. CONCLUSIONES**

Actualmente, millones de personas padecen enfermedades neurodegenerativas, entre ellas la mayoría, demencia y como se ha mencionado, está previsto que el número aumente en los próximos años. El querer mejorar la calidad de vida de los pacientes y las personas que los rodean, ha hecho que sea urgente encontrar una forma de prevenir o retrasar la aparición de estas patologías. Como se ha ido mencionando a lo largo del trabajo, numerosos estudios demuestran que el estrés oxidativo está implicado en la patogénesis de las cuatro patologías mencionadas, jugando un papel fundamental en los procesos fisiopatológicos de neurodegeneración, y que la melatonina presenta propiedades neuroprotectoras para frenar o, incluso ralentizar la progresión de estas enfermedades. La mayoría de estudios mencionados a lo largo del trabajo apoyan el uso de la melatonina en ensayos clínicos de pacientes con enfermedades neurodegenerativas, como terapia preventiva para evitar la progresión de éstas. Sin embargo, el número de estudios clínicos que afirmen la efectividad de esta indolamina sigue siendo muy reducido, haciendo que prevalezca la necesidad de aumentar la investigación en este campo a fin de encontrar una terapia que permita a los pacientes tener mejor calidad de vida, así como mejorar la prevención y la progresión de estas patologías neurodegenerativas.

Podemos concluir que,

1. La melatonina ha demostrado ser una potente antioxidante con capacidad para modular el estrés oxidativo, lo que puede contribuir a aliviar o retrasar el avance de las 4 enfermedades neurodegenerativas analizadas.
2. La melatonina gracias a sus propiedades antiinflamatorias, es capaz de inhibir la síntesis de citoquinas proinflamatorias evitando que las células de la microglía se activen. Gracias a todas estas acciones, la melatonina podría convertirse en una excelente candidata para el tratamiento de tales enfermedades como EA, EH, ELA y EP, aunque en alguna de ellas la evidencia sea menos concluyente.
3. En la enfermedad de Alzheimer, caracterizada por la formación de placas beta-amiloides y la hiperfosforilación de la proteína Tau, la melatonina previene la formación de placas seniles y reduce la hiperfosforilación de Tau mediante la inactivación de proteínas quinasas y fosfatasas.
4. La enfermedad de Alzheimer caracterizada por la pérdida progresiva de la memoria, de la cognición y otro tipo de manifestaciones comportamentales, la melatonina ha demostrado regular la alteración en el sistema colinérgico reduciendo el deterioro cognitivo.
5. La melatonina tiene un efecto regulador en el ciclo sueño-vigilia con efectos favorables en pacientes con enfermedades neurodegenerativas que son los siguientes: mejora la calidad de sueño y regula los ritmos circadianos, disminuyendo así el riesgo de neuroinflamación y de formación de placas A $\beta$ , retrasando así la aparición del Alzheimer.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Adi, N., Mash, D.C., Ali, Y., Singer, C., Shehadeh, L., Papapetropoulos, S. Melatonin mt1 and mt2 receptor expression in parkinson's disease (2010). *Medical Science Monitor*, 16, BR61–BR67.
- Agrawal, R., Tyagi, E., Shukla, R., & Nath, C. (2009). A study of brain insulin receptors, AChE activity and oxidative stress in rat model of ICV STZ induced dementia. *Neuropharmacology*, 56(4), 779–787. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2009.01.005>
- Ahmed, R. M., Ke, Y. D., Vucic, S., Ittner, L. M., Seeley, W., Hodges, J. R., Piguet, O., Halliday, G., & Kiernan, M. C. (2018). Physiological changes in neurodegeneration — mechanistic insights and clinical utility. *Nature Reviews Neurology*, 14(5), 259–271. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2018.23>
- Alghamdi, B. S. (2018). The neuroprotective role of melatonin in neurological disorders. *Journal of Neuroscience Research*, 96(7), 1136–1149. <https://doi.org/10.1002/jnr.24220>
- Amaral, F. G. D., & Cipolla-Neto, J. (2018). A brief review about melatonin, a pineal hormone. *Archives of Endocrinology and Metabolism*, 62(4), 472–479. <https://doi.org/10.20945/2359-3997000000066>
- Andrabi, S. A., Sayeed, I., Siemen, D., Wolf, G., & Horn, T. F. W. (2004). Direct inhibition of the mitochondrial permeability transition pore: a possible mechanism responsible for anti-apoptotic effects of melatonin. *The FASEB Journal*, 18(7), 869–871. <https://doi.org/10.1096/fj.03-1031fje>

- Avila, J. (2000). Tau aggregation into fibrillar polymers: taupathies. *FEBS Letters*, 476(1–2), 89–92. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(00\)01676-8](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(00)01676-8)
- Ballatore, C., Lee, V. M. Y., & Trojanowski, J. Q. (2007). Tau-mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease and related disorders. *Nature Reviews Neuroscience*, 8(9), 663–672. <https://doi.org/10.1038/nrn2194>
- Bieschke, J., Zhang, Q., Powers, E. T., Lerner, R. A., & Kelly, J. W. (2005). Oxidative Metabolites Accelerate Alzheimer's Amyloidogenesis by a Two-Step Mechanism, Eliminating the Requirement for Nucleation†. *Biochemistry*, 44(13), 4977–4983. <https://doi.org/10.1021/bi0501030>
- Bonilla, E., Medina-Leendertz, S., & Díaz, S. (2002). Extension of life span and stress resistance of *Drosophila melanogaster* by long-term supplementation with melatonin. *Experimental Gerontology*, 37(5), 629–638. [https://doi.org/10.1016/s0531-5565\(01\)00229-7](https://doi.org/10.1016/s0531-5565(01)00229-7)
- Braak, E., Braak, H., & Mandelkow, E. M. (1994). A sequence of cytoskeleton changes related to the formation of neurofibrillary tangles and neuropil threads. *Acta Neuropathologica*, 87(6), 554–567. <https://doi.org/10.1007/s004010050124>
- Brito-Armas, J.M., Baekelandt, V., Castro-Hernandez, J.R., Gonzalez-Hernandez, T., Rodriguez, M., & Castro, R. (2013). Melatonin prevents dopaminergic cell loss induced by lentiviral vectors expressing A30P mutant alpha-synuclein. *Histology and Histopathology*, 28, 999–1006. <https://doi.org/10.14670/HH-28.999>
- Campbell, A., Smith, M. A., Sayre, L. M., Bondy, S. C., & Perry, G. (2001). Mechanisms by which metals promote events connected to neurodegenerative diseases. *Brain Research Bulletin*, 55(2), 125–132. [https://doi.org/10.1016/s0361-9230\(01\)00455-5](https://doi.org/10.1016/s0361-9230(01)00455-5)
- Carlberg, C. (2006). Gene Regulation by Melatonin. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 917(1), 387–396. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb05403.x>
- Chen, D., Mei, Y., Kim, N., Lan, G., Gan, C., Fan, F., Zhang, T., Xia, Y., Wang, L., Lin, C., Ke, F., Zhou, X. Z., Lu, K. P., & Lee, T. H. (2020). Melatonin directly binds and inhibits death-associated protein kinase 1 function in Alzheimer's disease. *Journal of Pineal Research*, 69(2). <https://doi.org/10.1111/jpi.12665>
- Chung, S. Y., & Han, S. H. (2003). Melatonin attenuates kainic acid-induced hippocampal neurodegeneration and oxidative stress through microglial inhibition. *Journal of Pineal Research*, 34(2), 95–102. <https://doi.org/10.1034/j.1600-079x.2003.00010.x>
- Comai, S., & Gobbi, G. (2014). Unveiling the role of melatonin MT2 receptors in sleep, anxiety and other neuropsychiatric diseases: a novel target in psychopharmacology. *Journal of Psychiatry & Neuroscience*, 39(1), 6–21. <https://doi.org/10.1503/jpn.130009>
- Coyle, J., Price, D., & DeLong, M. (1983). Alzheimer's disease: a disorder of cortical cholinergic innervation. *Science*, 219(4589), 1184–1190. <https://doi.org/10.1126/science.6338589>
- Dauer, W., & Przedborski, S. (2003). Parkinson's Disease. *Neuron*, 39(6), 889–909. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(03\)00568-3](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(03)00568-3)
- Davis, K. L. (1999). Cholinergic Markers in Elderly Patients With Early Signs of Alzheimer Disease. *JAMA*, 281(15), 1401. <https://doi.org/10.1001/jama.281.15.1401>
- Deng, Y. Q., Xu, G. G., Duan, P., Zhang, Q., & Wang, J. Z. (2005). Effects of melatonin on wortmannin-induced tau hyperphosphorylation. *Acta Pharmacologica Sinica*, 26(5), 519–526. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7254.2005.00102.x>

- Díaz López, B. (2001). Acción de la melatonina en el proceso de envejecimiento. *Revista Española de Geriatria y Gerontología*, 36(5), 262–269. [https://doi.org/10.1016/s0211-139x\(01\)74733-6](https://doi.org/10.1016/s0211-139x(01)74733-6)
- Duncan, M. J. (2019). Interacting influences of aging and Alzheimer's disease on circadian rhythms. *European Journal of Neuroscience*, 51(1), 310–325. <https://doi.org/10.1111/ejn.14358>
- Escribano, B., Colin-Gonzalez, A., Santamaria, A., & Tunez, I. (2014). The Role of Melatonin in Multiple Sclerosis, Huntington's Disease and Cerebral Ischemia. *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets*, 13(6), 1096–1119. <https://doi.org/10.2174/1871527313666140806160400>
- Feng, Z., Chang, Y., Cheng, Y., Zhang, B. L., Qu, Z. W., Qin, C., & Zhang, J. T. (2004). Melatonin alleviates behavioral deficits associated with apoptosis and cholinergic system dysfunction in the APP 695 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Journal of Pineal Research*, 37(2), 129–136. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079x.2004.00144.x>
- Feng, Z., Cheng, Y., & Zhang, J. T. (2004). Long-term effects of melatonin or 17 $\beta$ -estradiol on improving spatial memory performance in cognitively impaired, ovariectomized adult rats. *Journal of Pineal Research*, 37(3), 198–206. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079x.2004.00158.x>
- Feng, Z., & Zhang, J. T. (2005). Long-term melatonin or 17 $\beta$ -estradiol supplementation alleviates oxidative stress in ovariectomized adult rats. *Free Radical Biology and Medicine*, 39(2), 195–204. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.03.007>
- Fernández, A., Ordóñez, R., Reiter, R. J., González-Gallego, J., & Mauriz, J. L. (2015). Melatonin and endoplasmic reticulum stress: Relation to autophagy and apoptosis. *Journal of Pineal Research*, 59(3), 292–307. <https://doi.org/10.1111/jpi.12264>
- Fernández-Bachiller, M. I., Pérez, C., Campillo, N. E., Páez, J. A., González-Muñoz, G. C., Usán, P., García-Palomero, E., López, M., Villarroja, M., García, A., Martínez, A., & Rodríguez-Franco, M. I. (2009). Tacrine-Melatonin Hybrids as Multifunctional Agents for Alzheimer's Disease, with Cholinergic, Antioxidant, and Neuroprotective Properties. *ChemMedChem*, 4(5), 828–841. <https://doi.org/10.1002/cmde.200800414>
- Ferrer, I., Gomez-Isla, T., Puig, B., Freixes, M., Ribe, E., Dalfo, E., & Avila, J. (2005). Current Advances on Different Kinases Involved in Tau Phosphorylation, and Implications in Alzheimers Disease and Tauopathies. *Current Alzheimer Research*, 2(1), 3–18. <https://doi.org/10.2174/1567205052772713>
- Fish, P. V., Steadman, D., Bayle, E. D., & Whiting, P. (2019). New approaches for the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 29(2), 125–133. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2018.11.034>
- Fisher, A., Pittel, Z., Haring, R., Bar-Ner, N., Kliger-Spatz, M., Natan, N., Egozi, I., Sonogo, H., Marcovitch, I., & Brandeis, R. (2003). M<sub>1</sub> Muscarinic Agonists Can Modulate Some of the Hallmarks in Alzheimer's Disease: Implications in Future Therapy. *Journal of Molecular Neuroscience*, 20(3), 349–356. <https://doi.org/10.1385/jmn:20:3:349>
- Fournier, I., Ploye, F., Cottet-Emard, J. M., Brun, J., & Claustrat, B. (2002). Folate Deficiency Alters Melatonin Secretion in Rats. *The Journal of Nutrition*, 132(9), 2781–2784. <https://doi.org/10.1093/jn/132.9.2781>
- Friedland, R. P., Luxenberg, J. S., & Koss, E. (1990). A Quantitative Study of Intracranial Calcification in Dementia of the Alzheimer Type. *International Psychogeriatrics*, 2(1), 37–43. <https://doi.org/10.1017/s104161029000028x>
- Friedlander, R. M. (2003). Apoptosis and Caspases in Neurodegenerative Diseases. *New England Journal of Medicine*, 348(14), 1365–1375. <https://doi.org/10.1056/nejmra022366>

- Gong, C. X., Liu, F., Grundke-Iqbal, I., & Iqbal, K. (2004). Post-translational modifications of tau protein in Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission*, *112*(6), 813–838. <https://doi.org/10.1007/s00702-004-0221-0>
- Guermonez, L., Ducrocq, C., & Gaudry-Talarmain, Y. M. (2001) Inhibition of acetylcholine synthesis and tyrosine nitration induced by peroxynitrite are differentially prevented by antioxidants. *Molecular Pharmacology*, *60*(4), 838–846.
- Gupta, M., Gupta, Y. K., Agarwal, S., Aneja, S., Kalaivani, M., & Kohli, K. (2004). Effects of Add-on Melatonin Administration on Antioxidant Enzymes in Children with Epilepsy Taking Carbamazepine Monotherapy: A Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Trial. *Epilepsia*, *45*(12), 1636–1639. <https://doi.org/10.1111/j.0013-9580.2004.17604.x>
- Hampel, H., Mesulam, M. M., Cuello, A. C., Farlow, M. R., Giacobini, E., Grossberg, G. T., Khachaturian, A. S., Vergallo, A., Cavado, E., Snyder, P. J., & Khachaturian, Z. S. (2018). The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. *Brain*, *141*(7), 1917–1933. <https://doi.org/10.1093/brain/awy132>
- Hardeland, R. (2005). Antioxidative Protection by Melatonin: Multiplicity of Mechanisms from Radical Detoxification to Radical Avoidance. *Endocrine*, *27*(2), 119–130. <https://doi.org/10.1385/endo:27:2:119>
- Hardeland, R. (2017). Taxon- and Site-Specific Melatonin Catabolism. *Molecules*, *22*(11), 2015. <https://doi.org/10.3390/molecules22112015>
- Hardy, J., & Higgins, G. (1992). Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science*, *256*(5054), 184–185. <https://doi.org/10.1126/science.1566067>
- Hossain, M. F., Uddin, M. S., Uddin, G. M. S., Sumsuzzman, D. M., Islam, M. S., Barreto, G. E., Mathew, B., & Ashraf, G. M. (2019). Melatonin in Alzheimer's Disease: A Latent Endogenous Regulator of Neurogenesis to Mitigate Alzheimer's Neuropathology. *Molecular Neurobiology*, *56*(12), 8255–8276. <https://doi.org/10.1007/s12035-019-01660-3>
- Hsiao, K., Chapman, P., Nilsen, S., Eckman, C., Harigaya, Y., Younkin, S., Yang, F., & Cole, G. (1996). Correlative Memory Deficits, A Elevation, and Amyloid Plaques in Transgenic Mice. *Science*, *274*(5284), 99–103. <https://doi.org/10.1126/science.274.5284.99>
- Humbert, W., & Pévet, P. (1995). The pineal gland of the aging rat: Calcium localization and variation in the number of pinealocytes. *Journal of Pineal Research*, *18*(1), 32–40. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079x.1995.tb00137.x>
- Ittner, L. M., & Götz, J. (2010). Amyloid- $\beta$  and tau — a toxic pas de deux in Alzheimer's disease. *Nature Reviews Neuroscience*, *12*(2), 67–72. <https://doi.org/10.1038/nrn2967>
- Jackson Huang, T., Fraser, P. E., & Chakrabarty, A. (1997). Fibrillogenesis of Alzheimer A $\beta$  peptides studied by fluorescence energy transfer. *Journal of Molecular Biology*, *269*(2), 214–224. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1997.1050>
- Jang, M. H., Jung, S. B., Lee, M. H., Kim, C. J., Oh, Y. T., Kang, I., Kim, J., & Kim, E. H. (2005). Melatonin attenuates amyloid beta<sub>25–35</sub>-induced apoptosis in mouse microglial BV2 cells. *Neuroscience Letters*, *380*(1–2), 26–31. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2005.01.003>
- Jin, Z., & El-Deiry, W. S. (2005). Overview of cell death signaling pathways. *Cancer Biology & Therapy*, *4*(2), 147–171. <https://doi.org/10.4161/cbt.4.2.1508>
- Jo, J., Whitcomb, D. J., Olsen, K. M., Kerrigan, T. L., Lo, S. C., Bru-Mercier, G., Dickinson, B., Scullion, S., Sheng, M., Collingridge, G., & Cho, K. (2011). A $\beta$ <sub>1–42</sub> inhibition of LTP is mediated by a

signaling pathway involving caspase-3, Akt1 and GSK-3 $\beta$ . *Nature Neuroscience*, 14(5), 545–547. <https://doi.org/10.1038/nn.2785>

- Jockers, R., Delagrangé, P., Dubocovich, M. L., Markus, R. P., Renault, N., Tosini, G., Cecon, E., & Zlotos, D. P. (2016). Update on melatonin receptors: IUPHAR Review 20. *British Journal of Pharmacology*, 173(18), 2702–2725. <https://doi.org/10.1111/bph.13536>
- Kallioli, E., Silajdžić, E., Nambron, R., Hill, N. R., Doshi, A., Frost, C., Watt, H., Hindmarsh, P., Björkqvist, M., & Warner, T. T. (2014). Plasma melatonin is reduced in Huntington's disease. *Movement Disorders*, 29(12), 1511–1515. <https://doi.org/10.1002/mds.26003>
- Kang, J. E., Lim, M. M., Bateman, R. J., Lee, J. J., Smyth, L. P., Cirrito, J. R., Fujiki, N., Nishino, S., & Holtzman, D. M. (2009). Amyloid- Dynamics Are Regulated by Orexin and the Sleep-Wake Cycle. *Science*, 326(5955), 1005–1007. <https://doi.org/10.1126/science.1180962>
- Kappers, J. A. (1960). The development, topographical relations and innervation of the epiphysis cerebri in the albino rat. *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie*, 52(2), 163–215. <https://doi.org/10.1007/bf00338980>
- Krüger, R., Kuhn, W., Müller, T., Woitalla, D., Graeber, M., Kösel, S., Przuntek, H., Epplen, J. T., Schols, L., & Riess, O. (1998). AlaSOPro mutation in the gene encoding  $\alpha$ -synuclein in Parkinson's disease. *Nature Genetics*, 18(2), 106–108. <https://doi.org/10.1038/ng0298-106>
- Lahiri, D. K. (1999). Melatonin affects the metabolism of the  $\beta$ -amyloid precursor protein in different cell types. *Journal of Pineal Research*, 26(3), 137–146. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079x.1999.tb00575.x>
- Lerchl, A. (1994). Increased oxidation of pineal serotonin as a possible explanation for reduced melatonin synthesis in the aging Djungarian hamster (*Phodopus sungorus*). *Neuroscience Letters*, 176(1), 25–28. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(94\)90862-1](https://doi.org/10.1016/0304-3940(94)90862-1)
- Lerner, A. B., Case, J. D., Takahashi, Y., Lee, T. H., & Mori, W. (1958). Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. *Journal of the American Chemical Society*, 80(10), 2587. <https://doi.org/10.1021/ja01543a060>
- Leung, A. W., & Halestrap, A. P. (2008). Recent progress in elucidating the molecular mechanism of the mitochondrial permeability transition pore. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1777(7–8), 946–952. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2008.03.009>
- Lin, L., Huang, Q. X., Yang, S. S., Chu, J., Wang, J. Z., & Tian, Q. (2013). Melatonin in Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(7), 14575–14593. <https://doi.org/10.3390/ijms140714575>
- Ling, Z. Q., Tian, Q., Wang, L., Fu, Z. Q., Wang, X. C., Wang, Q., & Wang, J. Z. (2009). Constant Illumination Induces Alzheimer-Like Damages with Endoplasmic Reticulum Involvement and the Protection of Melatonin. *Journal of Alzheimer's Disease*, 16(2), 287–300. <https://doi.org/10.3233/jad-2009-0949>
- Liu, R. Y., Zhou, J. N., van Heerikhuizen, J., Hofman, M. A., & Swaab, D. F. (1999). Decreased Melatonin Levels in Postmortem Cerebrospinal Fluid in Relation to Aging, Alzheimer's Disease, and Apolipoprotein E- $\epsilon$ 4/4 Genotype. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 84(1), 323–327. <https://doi.org/10.1210/jcem.84.1.5394>
- López, A., Ortiz, F., Doerrier, C., Venegas, C., Fernández-Ortiz, M., Aranda, P., Díaz-Casado, M. E., Fernández-Gil, B., Barriocanal-Casado, E., Escames, G., López, L. C., & Acuña-Castroviejo, D. (2017). Mitochondrial impairment and melatonin protection in parkinsonian mice do not depend of

inducible or neuronal nitric oxide synthases. *PLOS ONE*, 12(8), e0183090. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183090>

- Lynch-Day, M. A., Mao, K., Wang, K., Zhao, M., & Klionsky, D. J. (2012). The Role of Autophagy in Parkinson's Disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(4), a009357. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a009357>
- 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., Shoji, M., Abe, K., Leone, A., Grundke-Ikbal, I., Wilson, G. L., Ghiso, J., Williams, C., Refolo, L. M., & Pappolla, M. A. (2003). Melatonin increases survival and inhibits oxidative and amyloid pathology in a transgenic model of Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*, 85(5), 1101–1108. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.01654.x>
- Mazzotti, D. R., Guindalini, C., Moraes, W. A. D. S., Andersen, M. L., Cendoroglo, M. S., Ramos, L. R., & Tufik, S. (2014). Human longevity is associated with regular sleep patterns, maintenance of slow wave sleep, and favorable lipid profile. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 6. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2014.00134>
- Medeiros, C. A. M., Carvalhedo de Bruin, P. F., Lopes, L. A., Magalhães, M. C., de Lourdes Seabra, M., & Sales de Bruin, V. M. (2007). Effect of exogenous melatonin on sleep and motor dysfunction in Parkinson's disease. *Journal of Neurology*, 254(4), 459–464. <https://doi.org/10.1007/s00415-006-0390-x>
- Miller, D. B., & O'Callaghan, J. P. (2015). Biomarkers of Parkinson's disease: Present and future. *Metabolism*, 64(3), S40-S46. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2014.10.030>
- Mohseni, M., Mihandoost, E., Shirazi, A., Sepehrizadeh, Z., Bazzaz, J. T., & Ghazi-khansari, M. (2012). Melatonin may play a role in modulation of bax and bcl-2 expression levels to protect rat peripheral blood lymphocytes from gamma irradiation-induced apoptosis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 738-739, 19–27. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2012.08.006>
- Mrak, R. E., & Griffin, W. S. T. (2004). Microglia and neuroinflammation: A pathological perspective. *Journal of Neuroinflammation*, 1(1), 1. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-1-1>
- Muñoz-Hoyos, A., Amorós-Rodríguez, I., Molina-Carballo, A., Uberos-Fernández, J., & Acuña-Castroviejo, D. (1996). Pineal response after pyridoxine test in children. *Journal of Neural Transmission*, 103(7), 833–842. <https://doi.org/10.1007/bf01273361>
- Ortiz, G. G., Pacheco-Moisés, F. P., Gómez-Rodríguez, V. M., González-Renovato, E. D., Torres-Sánchez, E. D., & Ramírez-Anguiano, A. C. (2013). Fish oil, melatonin and vitamin E attenuates midbrain cyclooxygenase-2 activity and oxidative stress after the administration of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Metabolic Brain Disease*, 28(4), 705–709. <https://doi.org/10.1007/s11011-013-9416-0>
- Pacchierotti, C., Iapichino, S., Bossini, L., Pieraccini, F., & Castrogiovanni, P. (2001). Melatonin in Psychiatric Disorders: A Review on the Melatonin Involvement in Psychiatry. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 22(1), 18–32. <https://doi.org/10.1006/frne.2000.0202>
- Pandi-Perumal, S. R., BaHammam, A. S., Brown, G. M., Spence, D. W., Bharti, V. K., Kaur, C., Hardeland, R., & Cardinali, D. P. (2012). Melatonin Antioxidative Defense: Therapeutical Implications for Aging and Neurodegenerative Processes. *Neurotoxicity Research*, 23(3), 267–300. <https://doi.org/10.1007/s12640-012-9337-4>

- Pandi-Perumal, S., Trakht, I., Srinivasan, V., Spence, D., Maestroni, G., Zisapel, N., & Cardinali, D. (2008). Physiological effects of melatonin: Role of melatonin receptors and signal transduction pathways. *Progress in Neurobiology*, *85*(3), 335–353. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2008.04.001>
- Pappolla, M., Bozner, P., Soto, C., Shao, H., Robakis, N. K., Zagorski, M., Frangione, B., & Ghiso, J. (1998). Inhibition of Alzheimer  $\beta$ -Fibrillogenesis by Melatonin. *Journal of Biological Chemistry*, *273*(13), 7185–7188. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.13.7185>
- Park, S. Y., Jin, M. L., Kim, Y. H., Kim, Y., & Lee, S. J. (2012). Anti-inflammatory effects of aromatic-turmerone through blocking of NF- $\kappa$ B, JNK, and p38 MAPK signaling pathways in amyloid  $\beta$ -stimulated microglia. *International Immunopharmacology*, *14*(1), 13–20. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2012.06.003>
- Patki, G., & Lau, Y. S. (2011). Melatonin protects against neurobehavioral and mitochondrial deficits in a chronic mouse model of Parkinson's disease. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *99*(4), 704–711. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2011.06.026>
- Peineau, S., Taghibiglou, C., Bradley, C., Wong, T. P., Liu, L., Lu, J., Lo, E., Wu, D., Saule, E., Bouschet, T., Matthews, P., Isaac, J. T., Bortolotto, Z., Wang, Y. T., & Collingridge, G. L. (2007). LTP Inhibits LTD in the Hippocampus via Regulation of GSK3 $\beta$ . *Neuron*, *53*(5), 703–717. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.01.029>
- Poeggeler, B., Miravalle, L., Zagorski, M. G., Wisniewski, T., Chyan, Y. J., Zhang, Y., Shao, H., Bryant-Thomas, T., Vidal, R., Frangione, B., Ghiso, J., & Pappolla, M. A. (2001). Melatonin Reverses the Profibrillogenic Activity of Apolipoprotein E4 on the Alzheimer Amyloid A $\beta$  Peptide. *Biochemistry*, *40*(49), 14995–15001. <https://doi.org/10.1021/bi0114269>
- Quinn, J., Kulhanek, D., Nowlin, J., Jones, R., Praticò, D., Rokach, J., & Stackman, R. (2005). Chronic melatonin therapy fails to alter amyloid burden or oxidative damage in old Tg2576 mice: implications for clinical trials. *Brain Research*, *1037*(1–2), 209–213. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2005.01.023>
- Radogna, F., Cristofanon, S., Paternoster, L., D'Alessio, M., De Nicola, M., Cerella, C., Dicato, M., Diederich, M., & Ghibelli, L. (2008). Melatonin antagonizes the intrinsic pathway of apoptosis via mitochondrial targeting of Bcl-2. *Journal of Pineal Research*, *44*(3), 316–325. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079x.2007.00532.x>
- Rasool, C. G., Svendsen, C. N., & Selkoe, D. J. (1986). Neurofibrillary degeneration of cholinergic and noncholinergic neurons of the basal forebrain in Alzheimer's disease. *Annals of Neurology*, *20*(4), 482–488. <https://doi.org/10.1002/ana.410200407>
- Reiter, R. J., Paredes, S. D., Manchester, L. C., & Tan, D. X. (2009). Reducing oxidative/nitrosative stress: a newly-discovered genre for melatonin. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, *44*(4), 175–200. <https://doi.org/10.1080/10409230903044914>
- Reiter, R. J., Tan, D. X., & Galano, A. (2014). Melatonin: Exceeding Expectations. *Physiology*, *29*(5), 325–333. <https://doi.org/10.1152/physiol.00011.2014>
- Rodriguez, C., Mayo, J. C., Sainz, R. M., Antolin, I., Herrera, F., Martin, V., & Reiter, R. J. (2004). Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *Journal of Pineal Research*, *36*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1046/j.1600-079x.2003.00092.x>
- Rosales-Corral, S., Tan, D. X., Reiter, R. J., Valdivia-Velázquez, M., Martínez-Barboza, G., Pablo Acosta-Martínez, J., & Ortiz, G. G. (2003). 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. *Journal of Pineal Research*, 35(2), 80–84. <https://doi.org/10.1034/j.1600-079x.2003.00057.x>
- Ross, C. A., & Tabrizi, S. J. (2011). Huntington's disease: from molecular pathogenesis to clinical treatment. *The Lancet Neurology*, 10(1), 83–98. [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(10\)70245-3](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(10)70245-3)
- Ruiz, A., Matute, C., & Alberdi, E. (2010). Intracellular Ca<sup>2+</sup> release through ryanodine receptors contributes to AMPA receptor-mediated mitochondrial dysfunction and ER stress in oligodendrocytes. *Cell Death & Disease*, 1(7), e54. <https://doi.org/10.1038/cddis.2010.31>
- Savaskan, E., Ayoub, M. A., Ravid, R., Angeloni, D., Fraschini, F., Meier, F., Eckert, A., Müller-Spahn, F., & Jockers, R. (2005). Reduced hippocampal MT2 melatonin receptor expression in Alzheimer's disease. *Journal of Pineal Research*, 38(1), 10–16. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079x.2004.00169.x>
- Savaskan, E., Olivieri, G., Meier, F., Brydon, L., Jockers, R., Ravid, R., Wirz-Justice, A., & Müller-Spahn, F. (2002). Increased melatonin 1a-receptor immunoreactivity in the hippocampus of Alzheimer's disease patients. *Journal of Pineal Research*, 32(1), 59–62. <https://doi.org/10.1034/j.1600-079x.2002.00841.x>
- Schmid, H. A., Requintina, P. J., Oxenkrug, G. F., & Sturner, W. (1994). Calcium, calcification, and melatonin biosynthesis in the human pineal gland: A postmortem study into age-related factors. *Journal of Pineal Research*, 16(4), 178–183. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079x.1994.tb00098.x>
- Seabra, M. D. L. V., Bignotto, M., Pinto Jr., L. R., & Tufik, S. (2000). Randomized, double-blind clinical trial, controlled with placebo, of the toxicology of chronic melatonin treatment. *Journal of Pineal Research*, 29(4), 193–200. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0633.2002.290401.x>
- Selkoe, D. J. (2004). Cell biology of protein misfolding: The examples of Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Nature Cell Biology*, 6(11), 1054–1061. <https://doi.org/10.1038/ncb1104-1054>
- Selkoe, D. J. (1998). The cell biology of  $\beta$ -amyloid precursor protein and presenilin in Alzheimer's disease. *Trends in Cell Biology*, 8(11), 447–453. [https://doi.org/10.1016/s0962-8924\(98\)01363-4](https://doi.org/10.1016/s0962-8924(98)01363-4)
- Sidhu, A. (2004). The Role of  $\alpha$ -Synuclein in Both Neuroprotection and Neurodegeneration. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1035(1), 250–270. <https://doi.org/10.1196/annals.1332.016>
- Simonneaux, V., Poirel, V. J., Garidou, M. L., Nguyen, D., Diaz-Rodriguez, E., & Pévet, P. (2004). Daily rhythm and regulation of clock gene expression in the rat pineal gland. *Molecular Brain Research*, 120(2), 164–172. <https://doi.org/10.1016/j.molbrainres.2003.10.019>
- Singhal, N. K., Srivastava, G., Agrawal, S., Jain, S. K., & Singh, M. P. (2011). Melatonin as a Neuroprotective Agent in the Rodent Models of Parkinson's Disease: Is it All Set to Irrefutable Clinical Translation? *Molecular Neurobiology*, 45(1), 186–199. <https://doi.org/10.1007/s12035-011-8225-x>
- Skene, D. J., & Arendt, J. (2007). Circadian rhythm sleep disorders in the blind and their treatment with melatonin. *Sleep Medicine*, 8(6), 651–655. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2006.11.013>
- Spires-Jones, T. L., Stoothoff, W. H., de Calignon, A., Jones, P. B., & Hyman, B. T. (2009). Tau pathophysiology in neurodegeneration: a tangled issue. *Trends in Neurosciences*, 32(3), 150–159. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2008.11.007>
- Spencer, J., Middleton, L., & Davies, C. (2010). Investigation into the efficacy of the acetylcholinesterase inhibitor, donepezil, and novel procognitive agents to induce gamma oscillations in rat hippocampal slices. *Neuropharmacology*, 59(6), 437–443. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2010.06.005>

- Spuch, C., Antequera, D., Isabel Fernandez-Bachiller, M., Isabel Rodríguez-Franco, M., & Carro, E. (2009). A New Tacrine–Melatonin Hybrid Reduces Amyloid Burden and Behavioral Deficits in a Mouse Model of Alzheimer’s Disease. *Neurotoxicity Research*, *17*(4), 421–431. <https://doi.org/10.1007/s12640-009-9121-2>
- Steeves, T. D., King, D. P., Zhao, Y., Sangoram, A. M., Du, F., Bowcock, A. M., Moore, R. Y., & Takahashi, J. S. (1999). Molecular Cloning and Characterization of the HumanCLOCKGene: Expression in the Suprachiasmatic Nuclei. *Genomics*, *57*(2), 189–200. <https://doi.org/10.1006/geno.1998.5675>
- Stehle, J. H., Saade, A., Rawashdeh, O., Ackermann, K., Jilg, A., Sebestény, T., & Maronde, E. (2011). A survey of molecular details in the human pineal gland in the light of phylogeny, structure, function and chronobiological diseases. *Journal of Pineal Research*, *51*(1), 17–43. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079x.2011.00856.x>
- Struble, R., Cork, L., Whitehouse, P., & Price, D. (1982). Cholinergic innervation in neuritic plaques. *Science*, *216*(4544), 413–415. <https://doi.org/10.1126/science.6803359>
- Stuchbury, G., & Munch, G. (2004). Alzheimers associated inflammation, potential drug targets and future therapies. *Journal of Neural Transmission*, *112*(3), 429–453. <https://doi.org/10.1007/s00702-004-0188-x>
- Su, L. Y., Li, H., Lv, L., Feng, Y. M., Li, G. D., Luo, R., Zhou, H. J., Lei, X. G., Ma, L., Li, J. L., Xu, L., Hu, X. T., & Yao, Y. G. (2015). Melatonin attenuates MPTP-induced neurotoxicity via preventing CDK5-mediated autophagy and SNCA/ $\alpha$ -synuclein aggregation. *Autophagy*, *11*(10), 1745–1759. <https://doi.org/10.1080/15548627.2015.1082020>
- Tan, D. X., Manchester, L. C., Reiter, R. J., Qi, W. B., Karbownik, M., & Calvo, J. R. (2000). Significance of Melatonin in Antioxidative Defense System: Reactions and Products. *Neurosignals*, *9*(3–4), 137–159. <https://doi.org/10.1159/000014635>
- Tan, D. X., Manchester, L. C., Reiter, R. J., Qi, W. B., Zhang, M., Weintraub, S. T., Cabrera, J., Sainz, R. M., & Mayo, J. C. (1999). Identification of highly elevated levels of melatonin in bone marrow: its origin and significance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, *1472*(1–2), 206–214. [https://doi.org/10.1016/s0304-4165\(99\)00125-7](https://doi.org/10.1016/s0304-4165(99)00125-7)
- Tan, D. X., Manchester, L. C., Reiter, R. J., Qi, W., Kim, S. J., & El-Sokkary, G. H. (1998). Melatonin protects hippocampal neurons in vivo against kainic acid-induced damage in mice. *Journal of Neuroscience Research*, *54*(3), 382–389.
- Tang, F., Nag, S., Shiu, S., & Pang, S. (2002). 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 Sciences*, *71*(22), 2625–2631. [https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(02\)02105-7](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(02)02105-7)
- Terry, A. V., & Buccafusco, J. J. (2003). The Cholinergic Hypothesis of Age and Alzheimer’s Disease-Related Cognitive Deficits: Recent Challenges and Their Implications for Novel Drug Development. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *306*(3), 821–827. <https://doi.org/10.1124/jpet.102.041616>
- Thomas, J. N., & Smith-Sonneborn, J. (1997). Supplemental melatonin increases clonal lifespan in the protozoan *Paramecium tetraurelia*. *Journal of Pineal Research*, *23*(3), 123–130. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079x.1997.tb00344.x>
- Van der Burg, J. M., Björkqvist, M., & Brundin, P. (2009). Beyond the brain: widespread pathology in Huntington’s disease. *The Lancet Neurology*, *8*(8), 765–774. [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(09\)70178-4](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(09)70178-4)

- Waldhauser, F., Weiszenbacher, G., Tatzer, E., Gisinger, B., Waldhauser, M., Schemper, M., & Frisch, H. (1988). Alterations in Nocturnal Serum Melatonin Levels In Humans With Growth and Aging\*. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 66(3), 648–652. <https://doi.org/10.1210/jcem-66-3-648>
- Wang, L., Zhou, Y., Chen, D., & Lee, T. H. (2020). Peptidyl-Prolyl Cis/Trans Isomerase Pin1 and Alzheimer's Disease. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00355>
- Wang, X. (2009). The Antiapoptotic Activity of Melatonin in Neurodegenerative Diseases. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 15(4), 345–357. <https://doi.org/10.1111/j.1755-5949.2009.00105.x>
- Wang, X., Sirianni, A., Pei, Z., Cormier, K., Smith, K., Jiang, J., Zhou, S., Wang, H., Zhao, R., Yano, H., Kim, J. E., Li, W., Kristal, B. S., Ferrante, R. J., & Friedlander, R. M. (2011). The Melatonin MT1 Receptor Axis Modulates Mutant Huntingtin-Mediated Toxicity. *Journal of Neuroscience*, 31(41), 14496–14507. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.3059-11.2011>
- Wang, Y. P., Li, X. T., Liu, S. J., Zhou, X. W., Wang, X. C., & Wang, J. Z. (2004) Melatonin ameliorated okadaic-acid induced Alzheimer-like lesions. *Acta Pharmacologica Sinica*, 25(3), 276–280.
- Weller, J., & Budson, A. (2018). Current understanding of Alzheimer's disease diagnosis and treatment. *F1000Research*, 7, 1161. <https://doi.org/10.12688/f1000research.14506.1>
- Willis, G. L. (2008). Parkinson's Disease as a Neuroendocrine Disorder of Circadian Function: Dopamine-Melatonin Imbalance and the Visual System in the Genesis and Progression of the Degenerative Process. *Reviews in the Neurosciences*, 19(4–5). <https://doi.org/10.1515/revneuro.2008.19.4-5.245>
- Willis, G. L. (2005). The role of ML-23 and other melatonin analogues in the treatment and management of Parkinson's. *Drug News & Perspectives*, 18(7), 437. <https://doi.org/10.1358/dnp.2005.18.7.939349>
- Wu, Y. H., Feenstra, M. G. P., Zhou, J. N., Liu, R. Y., Toranó, J. S., Van Kan, H. J. M., Fischer, D. F., Ravid, R., & Swaab, D. F. (2003). Molecular Changes Underlying Reduced Pineal Melatonin Levels in Alzheimer Disease: Alterations in Preclinical and Clinical Stages. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 88(12), 5898–5906. <https://doi.org/10.1210/jc.2003-030833>
- Wu, Y. H., Fischer, D. F., & Swaab, D. F. (2007). A promoter polymorphism in the monoamine oxidase A gene is associated with the pineal MAOA activity in Alzheimer's disease patients. *Brain Research*, 1167, 13–19. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2007.06.053>
- Wu, Y. H., & Swaab, D. F. (2005). The human pineal gland and melatonin in aging and Alzheimer's disease. *Journal of Pineal Research*, 38(3), 145–152. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079x.2004.00196.x>
- Xue, F., Shi, C., Chen, Q., Hang, W., Xia, L., Wu, Y., Tao, S. Z., Zhou, J., Shi, A., & Chen, J. (2017). Melatonin Mediates Protective Effects against Kainic Acid-Induced Neuronal Death through Safeguarding ER Stress and Mitochondrial Disturbance. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 10. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00049>
- Yang, X., Yang, Y., Fu, Z., Li, Y., Feng, J., Luo, J., Zhang, Q., Wang, Q., & Tian, Q. (2010). Melatonin ameliorates Alzheimer-like pathological changes and spatial memory retention impairment induced by calyculin A. *Journal of Psychopharmacology*, 25(8), 1118–1125. <https://doi.org/10.1177/0269881110367723>
- Yokota, O., Terada, S., Ishizu, H., Ishihara, T., Ujike, H., Nakashima, H., Nakashima, Y., Kugo, A., Checler, F., & Kuroda, S. (2003). Cyclooxygenase-2 in the hippocampus is up-regulated in Alzheimer's disease but not in variant Alzheimer's disease with cotton wool plaques in humans. *Neuroscience Letters*, 343(3), 175–179. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(03\)00339-2](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(03)00339-2)

- Yuan, H., & Pang, S. F. (1991). [125I]Iodomelatonin-binding sites in the pigeon brain: binding characteristics, regional distribution and diurnal variation. *Journal of Endocrinology*, 128(3), 475–482. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1280475>
- Zhang, Y., Cook, A., Kim, J., Baranov, S. V., Jiang, J., Smith, K., Cormier, K., Bennett, E., Browser, R. P., Day, A. L., Carlisle, D. L., Ferrante, R. J., Wang, X., & Friedlander, R. M. (2013). Melatonin inhibits the caspase-1/cytochrome c/caspase-3 cell death pathway, inhibits MT1 receptor loss and delays disease progression in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiology of Disease*, 55, 26–35. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2013.03.008>
- Zhou, J. N., Liu, R. Y., Kamphorst, W., Hofman, M. A., & Swaab, D. F. (2003). Early neuropathological Alzheimer's changes in aged individuals are accompanied by decreased cerebrospinal fluid melatonin levels. *Journal of Pineal Research*, 35(2), 125–130. <https://doi.org/10.1034/j.1600-079x.2003.00065.x>
- Zisapel, N. (2018). New perspectives on the role of melatonin in human sleep, circadian rhythms and their regulation. *British Journal of Pharmacology*, 175(16), 3190–3199. <https://doi.org/10.1111/bph.14111>