

EWA CHWELATIUK

Uniwersytet w Białymstoku
Instytut Biologii
Świerkowa 20B 15-950 Białystok
e-mail: chwelat@uwb.edu.pl

MELATONINA U SSAKÓW – ZWIĄZEK O WIELU FUNKCJACH

WSTĘP

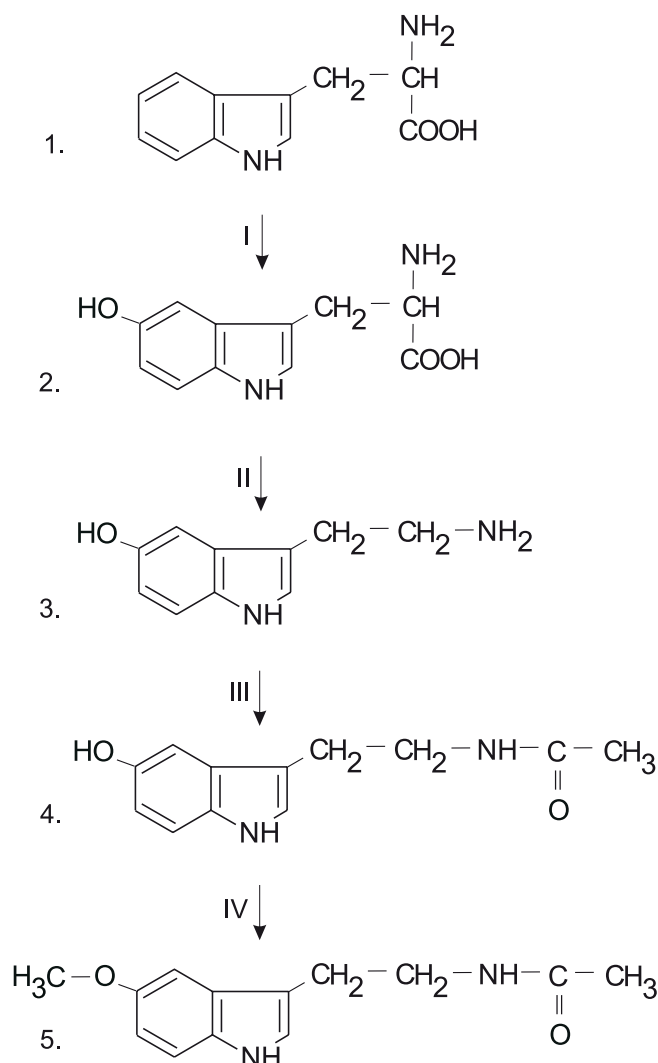
Melatonina (N-acetylo-5-metoksytryptamina) jest indoloaminą, wyizolowaną po raz pierwszy 50 lat temu z szyszynki bydłowej (LERNER i współaut. 1958). Przez długi czas substancję tę uważano wyłącznie za hormon występujący jedynie u kręgowców. Okazało się jednak, że melatonina jest związkiem powszechnie występującym w przyrodzie. Została ona wyizolowana z bakterii (MANCHESTER i współaut. 1995), glonów, np. *Gonyaulax polyedra*, *Pterygophora californica*, roślin wyższych, np. *Malus domestica*, *Cucumis sativus*, *Zea mays* (VAN TASSEL i współaut. 2001) oraz bezkręgowców, np. wypławka, muszki owocowej (HARDELAND i POEGGELER 2003, HARDELAND i współaut. 2006). W organizmach kręgowców głównym i najlepiej poznanym miejscem biosyntezy melatoniny jest szyszynka (MAKSIMOVICH 2002). W zależności od kształtu i położenia szyszynki (łac. *epiphysis cerebri s. corpus pineale*) w stosunku do komory III, wyróżniono wśród ssaków 3 typy tego gruczołu (KARASEK 1997). Typ przyśrodkowy (A), występujący u człowieka, jest zlokalizowany w nadwzgorzu mózgu (łac. *epithalamus*) w zagłębieniu pomiędzy wzgórkami górnymi, połączony jest z pozostałymi elementami nadwzgorza poprzez

szypułę i posiada kształt stożka (OSTROWSKI 1995). Typ przyśrodkowo-pośredni szyszynki (AB), o kształcie wydłużonym, występuje np. u kota, natomiast typ przyśrodkowo-pośrednio-obwodowy (ABC) charakteryzuje silnie wydłużoną szyszynkę sięgającą mózdzku (np. u świnki morskiej). Masa tego gruczołu zależy od gatunku ssaka i wynosi: 0,2 mg (mysz), 9 mg (pies), 100–200 mg (człowiek), 1 g (foka Weddela). Melatonina powstała w szyszynce jest wydzielana głównie do krwi, wraz z którą jest transportowana do tkanek pełniąc rolę hormonu, natomiast niewielka część tej substancji wydzielana do płynu mózgowo-rdzeniowego, dociera i działa w obrębie tkanek ośrodkowego układu nerwowego, wykazując właściwości parakryne (TRICOTIRE i współaut. 2002, TAN i współaut. 2003). Ponadto, melatonina może być syntetyzowana poza szyszynką, w tkankach, które nie są gruczołami endokrynnymi, np. siatkówce i soczewce oka, gruczole Hardera, komórkach enterochromatofilnych jelita, komórkach przysadki i szpiku kostnego oraz komórkach układu immunologicznego, regulując funkcje tych tkanek (działanie autokryne) (TAN i współaut. 1999, ALARMA-ESTRANY i PINTOR 2007).

BIOSYNTETA I METABOLIZM MELATONINY

Prekursorem melatoniny jest L-tryptofan, pobierany przez pinealocyty z krwi wbrew gradientowi stężeń, który pod wpływem 5-hy-

droksylazy tryptofanowej ulega hydroksylacji do 5-hydroksytryptofanu (Ryc. 1). Następnie związek ten ulega dekarboksylacji katalizowa-



Ryc. 1. Schemat biosyntezy melatoniny.

1 – L-tryptofan, 2 – 5-hydroksytryptofan, 3 – serotonina, 4 – N-acetyloserotonina, 5 – melatonina, I – 5-hydroksylaza tryptofanowa, II – dekarboksylaza 5-hydroksytryptofanowa, III – N-acetylotransferaza serotoniny (NAT), IV – transferaza hydroksyindolo-O-metylowa (HIOMT).

nej przez dekarboksylazę 5-hydroksytryptofanową i w rezultacie powstaje 5-hydroksytryptamina (serotonina). Przy udziale N-acetylotransferazy serotoniny (NAT) serotonina jest acetylowana do N-acetyloserotoniny, która pod wpływem transferazy hydroksyindolo-O-metylowej (HIOMT) ulega metylacji do N-acetylo-5-metoksytryptaminy (melatoniny) (ERKOĆ i współaut. 2002). Melatonina nie jest magazynowana w szyszynce, ale bezpośrednio po powstaniu, dzięki wysokiej rozpuszczalności w tłuszczach i roztworach wodnych, z łatwością dyfunduje z pinealocytów

głównie do krwi (REITER 2003). Biologiczny czas półtrwania tego hormonu wynosi około 40 minut (CARDINALI i PÉVET 1998). W przeważającej ilości (90%) melatonina jest metabolizowana w wątrobie, natomiast pozostała jej część – w nerkach. Proces ten polega na hydroksylacji melatoniny w pozycji 6 pierścienia indolowego do 6-hydroksymelatoniny, która ulega sprzęganiu z kwasem siarkowym lub glukuronowym. Ostatecznie melatonina, głównie jako siarczan 6-hydroksymelatoniny, jest wydalana z moczem (CLAUSTRAT i współaut. 2005).

REGULACJA WYDZIELANIA MELATONINY

Synteza i wydzielanie melatoniny podlegają rytmicznym dobowym wahaniom regulowanym przez światło; nocą poziom tego hormonu w surowicy jest wysoki (u człowieka $250\text{--}120 \times 10^{-12} \text{ M}$), natomiast obni-

ża się w ciągu dnia ($10 \times 10^{-12} \text{ M}$) (ZEITZER i współaut. 2000). Rytm wydzielania melatoniny jest kontrolowany endogennie poprzez wewnętrzny zegar biologiczny, który stanowią jądra nadskrzyżowaniowe podwzgórza

(ang. suprachiasmatic nuclei, SCN). Impuls świetlny, po uprzedniej fotorecepcji w komórkach zwojowych siatkówki oka, ulega przekształceniu w impuls elektryczny, przesyłany szlakiem siatkówkowo-podwzgórzowym nerwu wzrokowego do jąder nadskrzyżowaniowych. Informacja przetworzona w nadrzędnym zegarze dociera do przyśrodkowej wiązki przodomózgowia poprzez jądro przykomorowe podwzgórza (TECLEMARIAM-MESBAH i współaut. 1999). Następnie, przez jądro pośrednio-boczne rdzenia kręgowego i zwój szczyjny górny pnia współczulnego, sygnał dociera do szyszynki przez zazwojowe włókna współczulne, które wydzielają noradrenalinę (MOLLER i BAERES 2002). Noradrenalina, łącząca się głównie z receptorami $\beta 1$ -adrenergicznymi na błonie pinealocytów, wywołuje wzrost stężenia cAMP stymulującego syntezę N-acetylotransferazy serotoninowej (NAT), kluczowego enzymu na szlaku biosyntezy melatoniny. Podczas fazy ciemnej (skotofazy) neurony SCN wykazują mniejszą aktywność w porównaniu do fazy jasnej (fotofazy), co pobudza zakończenia współczulne szyszynki do wydzielania noradrenaliny, a w konsekwencji do zwiększonej syntezy melatoniny. Stężenie melatoniny, niezależnie od trybu ży-

cia zwierząt (nocny, dzienny czy mieszany), jest zawsze najwyższe nocą, a dynamika tego nocnego wzrostu zależy od gatunku zwierzęcia. Znane są trzy profile syntezy i wydzielania tego hormonu. Profil A, występujący u chomika syryjskiego, myszy domowej i gerbilla, charakteryzuje się występowaniem szczytu syntezy melatoniny pod koniec okresu ciemności; profil B polega na stopniowym wzroście stężenia, aż do osiągnięcia maksimum w środku fazy ciemnej (człowiek, szczur, suseł, pręgowiec amerykański, chomik turecki). W profilu C szczyt syntezy następuje natychmiast po nastaniu ciemności i trwa do końca fazy ciemnej (kot, owca, bawelniak, chomik syberyjski) (NOWAK i ZAWILSKA 1998).

Ilość syntetyzowanej melatoniny zależy od wieku zwierząt – poziom tej substancji w surowicy jest wysoki u osobników młodych i maleje u dorosłych (REITER i współaut. 2002, LAHIRI i współaut. 2004). Stopniowe obniżanie syntezy tego hormonu przez szyszynkę może być związane z redukcją liczby receptorów β -adrenergicznych na błonie komórkowej pinealocytów lub osłabieniem wraz z wiekiem sygnału płynącego z SCN (REITER 2003).

RECEPTORY MELATONINY

Większość efektów wywoływanych przez melatoninę wynika głównie z pobudzenia przez ten związek specyficznych receptorów molekularnych (DUBOCOVICH i współaut. 2003). Lokalizacja oraz charakterystyka farmakologiczna tych receptorów była możliwa dzięki zastosowaniu 2-[125 I]-jodomelatoniny – radioliganda o wysokim powinowactwie do receptora melatoniny ($K_d = 25$ – 160 pM) oraz o wysokiej aktywności wewnętrznej (CARDINALI i współaut. 1997). Początkowo sklonowano cDNA trzech typów genetycznych receptorów melatoninowych: Mel_{1a} w melanoforach skóry żaby *Xenopus laevis*, mózgu kurczęcia, części guzowatej przysadki mózgowej owcy i myszy, podwzgórza człowieka i myszy; Mel_{1b} w siatkówce i hipokampie człowieka oraz Mel_{1c} w mózgu kurczęcia. Obecna klasyfikacja, oparta o zalecenia komitetu ds. nazewnictwa receptorów melatoninowych (IUPHAR), obejmuje następujące typy receptorów:

– mt_1 o wysokim powinowactwie, odpowiadający sklonowanemu receptorom Mel_{1a} ;

– mt_2 o niskim powinowactwie, odpowiadający sklonowanemu receptorom Mel_{1b} ;

– mt_3 (DUBOCOVICH i współaut. 1998).

Receptory mt_1 i mt_2 należą do nadrodziny receptorów błonowych sprzężonych z białkami G, np. $Gi_{\alpha 2}$, $Gi_{\alpha 3}$, $G_{\alpha q}$, $G_{\alpha s}$, $G_{\alpha z}$ i $G_{\alpha 16}$ (tzw. nadrodzina GPCR). Informacja biochemiczna, przy udziale błonowych receptorów melatoniny, przebiega różnymi szlakami. Podstawowym wtórnym przekąźnikiem tych receptorów jest cAMP (3'-5'-cykliczny adenylozynomonofosforan). Melatonina aktywując receptor mt_1 hamuje stymulowany forskoliną wzrost syntezy cAMP i w rezultacie zmniejsza aktywność kinazy białkowej A, odpowiedzialnej za fosforylację białek, w tym czynników transkrypcyjnych regulujących funkcje genów (EKMEKCIOGLU 2006). Pod wpływem melatoniny zmniejsza się fosforylacja czynnika transkrypcyjnego CREB, zależnego od cAMP białka wiążącego się z DNA. Ponadto, melatonina zwiększa aktywność fosfolipazy C, która hydrolizuje błonowe fosfatydyloinozytole do fosforanu (PIP) i difosforanu fosfatydyloinozytolu (PIP_2). Produktem rozpadu PIP_2 jest

IP_3 i DAG, a w konsekwencji dochodzi do aktywacji szlaków IP_3 - Ca^{2+} i DAG-PKC. Rezultatem aktywacji receptorów mt_1 jest zahamowanie aktywności kinazy białkowej zależnej od cAMP, zwiększenie fosforylacji kinaz białkowych aktywowanych mitogenami oraz regulacja działania kanałów jonowych (VON GALL i współaut. 2002). Stwierdzono bowiem udział melatoniny w zwężaniu światła tętnic u szczurów poprzez blokowanie kanałów potasowych aktywowanych wapniem. Ponadto, melatonina może stymulować napływ K^+ do wnętrza komórki przez kanały potasowe $KIR3$, co w konsekwencji prowadzi do depolaryzacji błon komórkowych neuronów SCN. Rezultatem wzbudzenia receptora mt_2 jest również zmniejszenie akumulacji cAMP, ale i zahamowanie stymulowanego wzrostu cGMP (3'-5'-cykliczny guanozynomonofosforan), co stwierdzono po sklonowaniu i ekspresji tego receptora w linii komórkowej HEK293. Trzeci rodzaj błonowego receptora melatoniny, receptor mt_3 , należy do rodziny reduktaz chinonowych (WITT-ENDERBY i współaut. 2003). Białko receptorowe mt_3 wykazuje 95% homologię do ludzkiej reduktazy 2-chinonowej, uczestniczącej w procesie detoksykacji. Wiedza na temat funkcji mt_3 i mechanizmu transdukcji sygnału poprzez ten receptor jest niewielka. Badania zespołu Pintora (PINTOR i współaut. 2003) wskazują, że mt_3 może mieć udział w regulacji ciśnienia wewnątrz gałki ocznej u królików.

U ssaków receptory melatoninowe zlokalizowane są głównie w ośrodkowym układzie nerwowym, przede wszystkim w części guzowatej przysadki i jądrach nadskrzyżowaniowych podwzgórza, w mniejszej ilości w

jądrze przykomorowym wzgórza, korze mózgowej, siatkówce i hipokampie (BARRETT i współaut. 2003). Poza ośrodkowym układem nerwowym obecność receptorów stwierdzono w gonadach, tętnicy ogonowej, gruczole krokowym, nerkach, nadnerczach, przewodzie pokarmowym, wątrobie, narządach i tkankach układu immunologicznego. Brak receptorów melatoniny na błonach komórkowych nie świadczy o braku wpływu melatoniny na daną komórkę. Dzięki właściwościom amfifilowym substancja ta może z łatwością przechodzić przez błony biologiczne i łączyć się w cytozolu z kalmoduliną oraz ze zlokalizowanymi w jądrze komórkowym tzw. receptorami sierocymi RZR/ROR — $RZR\alpha$ i $RZR\beta$ (ang. nuclear retinoid orphan receptor), wpływając m. in. na podział komórki (GUERRERO i współaut. 2000). Wynikiem pobudzenia receptora $RZR\beta$ jest regulacja transkrypcji niektórych genów, natomiast $RZR\alpha$ regulacja wydzielania interleukin 2 (IL-2) i 4 (IL-4) przez monocyty oraz zmniejszenie ekspresji mRNA 5-lipooksygenazy w linii komórkowej limfocytów B uzyskanych od człowieka (STEINHILBER i współaut. 1995). Ponieważ 5-lipooksygenaza katalizuje reakcję przemiany kwasu arachidonowego do leukotrienów, eikozanoidów uczestniczących w procesie zapalnym, np. zapalenie stawów, można przypuszczać, że po części ten mechanizm leży u podłoża przeciwzapalnego działania melatoniny.

$RZR/ROR\alpha$ ulega ekspresji w wielu tkankach, np. wątrobie, mięśniach gładkich niektórych typach jądrzastych elementów morfotycznych krwi, natomiast występowanie $RZR\beta$ jest ograniczone do mózgu i siatkówki.

ZNACZENIE MELATONINY

MELATONINA W CHRONOBIOLOGII

Zdolność szyszynki do odbierania drogą nerwową przetworzonej informacji o warunkach świetlnych panujących w środowisku zewnętrznym oraz jej cykliczna aktywność predysponują ten gruczoł do pełnienia funkcji synchronizującej procesy fizjologiczne organizmu ze zmianami zachodzącymi w środowisku zewnętrznym (ARMSTRONG 1989). Melatonina pełni rolę biochemicznego zegara biologicznego, regulującego czas trwania procesów fizjologicznych przebiegających w rytmie dobowym, np. cykl sen — czuwanie, okołodobowy rytm wydzielania hormonów

(np. kortykosteronu), rytm procesów odpornościowych oraz rytm temperatury ciała. Ponadto, melatonina dostarcza informacji o zmieniających się sezonowo warunkach środowiska, funkcjonując jako kalendarz biochemiczny (PÉVET i współaut. 2002). Gdy podwyższony poziom melatoniny we krwi utrzymuje się przez dłuższy czas, stanowi to informację o nadchodzącej zimie, natomiast gdy okres wydzielania melatoniny się skraca, świadczy to o zbliżającej się wiosnie. Na podstawie poziomu melatoniny zwierzęta fotowrażliwe mogą przewidywać temperaturę otoczenia, dostępność pokarmu i dostosowywać do nich sezonowe zmiany funkcjonowania

układu immunologicznego, behawioru, metabolizmu czy rozrodu (NELSON i DRAZEN 1999, BARTNESS i współaut. 2002). Wydłużanie się okresu fotofazy jest dla tzw. reproduktorów dnia długiego, np. gryzoni czy nietoperzy, sygnałem do podjęcia rozmnażania, natomiast wzrastający czas trwania skotofazy związanej z utrzymywaniem się wysokiego stężenia melatoniny we krwi, skutkuje inwolucją gonad u obu płci. U samic obserwuje się wówczas za-

hamowanie owulacji, zmniejszenie liczby rosnących pęcherzyków i w rezultacie spadek poziomu estrogenów we krwi. Natomiast u samców zostaje zahamowana spermatogeneza i obniża się poziom androgenów (NIEDZIELA i współaut. 1995). U reproduktorów krótkiego dnia, np. owcy, melatonina działa progonotropowo, a więc wydłużanie okresu skotofazy jest impulsem do podjęcia rozrodu.

MELATONINA JAKO ZMIATACZ WOLNYCH RODNIKÓW I ANTYOKSYDANT

Jedną z funkcji melatoniny jest obniżanie stresu oksydacyjnego poprzez zmiatanie wolnych rodników lub uniemożliwianie ich powstawania na skutek regulacji aktywności enzymów antyoksydacyjnych (ZATTA i współaut. 2003, HARDELAND 2005). Ze względu na obecność grup: O-metylowej i N-acetylowej w cząsteczce melatoniny, nadających jej charakter amfifilowy, związek ten może pełnić rolę przeciwutleniacza zarówno hydrofilowego, jak i hydrofobowego (ALLEGRA i współaut. 2003). Melatonina jest bowiem znacznie efektywniejszym antyoksydantem od hydrofobowej witaminy E (PIERI i współaut. 1995, GULCIN i współaut. 2002) i od hydrofilowego glutationu (REITER 1998). Ponadto, obecność grup O-metylowej i N-acetylowej decyduje o wyjątkowej skuteczności melatoniny w stosunku do innych strukturalnie podobnych indoloamin, np. N-acetyloserotoniny czy kwasu indolo-3-propionowego (GOZZO i współaut. 1999, KARBOWNIK i współaut. 2001b).

Dezaktywacja reaktywnych form tlenu (RFT) polega na bezpośredniej reakcji tych cząsteczek z melatoniną. Dzięki aromatycznemu pierścieniowi indolowemu, bogatemu w elektrony, melatonina pełni rolę donora elektronów dla rodników elektrofilowych, np. najbardziej reaktywnego rodnika hydroksylowego $\text{OH}^\bullet$ ($E'_0 = 2,31 \text{ V}$), zdolnego do utlenienia każdej substancji występującej w organizmie (TAN i współaut. 1993). Znane są dwa modele neutralizowania tego rodnika przez melatoninę. W pierwszym, produkt redukcji $\text{OH}^\bullet$ – rodnik kationu indolilowego może dalej neutralizować anionorodnik ponadtlenkowy ($\text{O}_2^{\bullet-}$) tworząc nietoksyczną N¹-acetylo-N²-formylo-5-metoksykynuraminę (AFMK). Według drugiego modelu jedna cząsteczka $\text{OH}^\bullet$ przyłącza się w 3 pozycji pierścienia indolowego melatoniny tworząc rodnik 3-hydroksymelatoniny, ulegający następnie cyklizacji w rodnik cyklicznej 3-hydroksymelatoniny,

który reagując z drugą cząsteczką rodnika hydroksylowego tworzy cykliczną 3-hydroksymelatoninę (TAN i współaut. 1998).

Melatonina skutecznie dezaktywuje również inne czynniki utleniające, np. tlen singletowy ($^1\text{O}_2$), tlenek azotu ($\text{NO}^\bullet$), anion kwasu nadtlendioazotawego (ONOO^-) oraz nadtlenek wodoru (H_2O_2) (REITER i współaut. 1997, TAN i współaut. 2000, GULCIN i współaut. 2003). Poza działaniem melatoniny związanym z bezpośrednią reakcją z wolnymi rodnikami (antyoksydant prewentywny), substancja ta może również unieczynniać pośrednie produkty utleniania (antyoksydant interwentywny), np. rodnik nadtlenkowy ($\text{ROO}^\bullet$) (MARSHALL i współaut. 1996). Poprzez dezaktywację tego rodnika melatonina może hamować proces peroksydacji lipidów, a więc wolnorodnikowy proces utlenienia wielonienasyconych kwasów tłuszczowych do nadtlenków tych substancji, czego konsekwencją może być dezintegracja błony komórkowej i uszkodzenie komórki. Jednak zdolność melatoniny do interakcji z rodnikiem nadtlenkowym jest kwestią kontrowersyjną (LIVREA i współaut. 1997, ANTUNES i współaut. 1999). Zgodnie z obecnym stanem wiedzy, obniżenie poziomu peroksydacji lipidów pod wpływem melatoniny nie wynika z jej właściwości dezaktywacji $\text{ROO}^\bullet$, a raczej jest skutkiem jej reakcji z rodnikami inicjującymi ten proces $\text{OH}^\bullet$ i ONOO^- (REITER i współaut. 2007).

Przeciwutleniające działanie melatoniny po części związane jest również z pośrednim wpływem tej substancji na ekspresję genów i aktywność enzymów antyoksydacyjnych (RODRIGUEZ i współaut. 2004). Melatonina stymuluje aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (cytozolowej CuZnSOD i mitochondrialnej MnSOD), katalizującej reakcję przekształcenia anionorodnika ponadtlenkowego w nadtlenek wodoru (DZIĘGIEL i współaut. 1997, MAYO i współaut. 2002). Zwiększenie

zaś aktywności katalazy (CAT) i peroksydazy glutationowej (GSH-Px), katalizujących rozkład H_2O_2 uniemożliwia przekształcenie tego mało reaktywnego związku w wysoce reaktywny rodnik hydroksylowy (RODRIGUEZ i współaut. 2004, KULIKOWSKA-KARPIŃSKA i MOŃIUSZKO-JAKONIUK 2004). Ponadto, melatonina pobudza syntezę i odtwarzanie glutationu (GSH), głównego antyoksydanta komórkowego, zwiększa aktywność enzymu limitującego produkcję GSH syntetazy γ -glutamylcysteinowej oraz enzymów uczestniczących w regeneracji tego związku: GSH-Px, reduktazy glutationowej (GSH-Rd) oraz dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej (G6PD). Melatonina, poza zwiększaniem aktywności enzymów antyoksydacyjnych, hamuje aktywność enzymów prooksydacyjnych, np. syntazy tlenku azotu (NOS) (KARBOWNIK i współaut. 2001a). Uważa się, że regulacja aktywności tych enzymów przez melatoninę odbywa się głównie poprzez oddziaływanie ze specyficznymi receptorami mt_1/mt_2 poprzez wtórne przekazniki, tj. cAMP (MAYO i współaut. 2002). Ponadto, wiązanie melatoniny z błonowymi białkami receptorowymi może uaktywniać kaskady kinaz MAP, pobudzające transkryp-

cję genów niektórych czynników transkrypcyjnych, uruchamiających określone geny docelowe. Wpływ melatoniny na enzymy antyoksydacyjne może być również związany z receptorami RZR/ROR (RODRIGUEZ i współaut. 2004).

W badaniach przeprowadzonych zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo* stwierdzono, że melatonina skutecznie zapobiega uszkodzeniom makrocząsteczek komórkowych: DNA, białek i lipidów, których przyczyną jest stres oksydacyjny (STADTMAN 1992, MARNETT 2000). Na poziomie komórkowym w mitochondriach, szczególnie narażonych na działanie reaktywnych form tlenu, melatonina utrzymuje homeostazę GSH. Ponadto wpływa na transport elektronów w łańcuchu oddechowym bezpośrednio stymulując aktywność reduktazy NADH-Q i oksydazy cytochromu *c* (LEON i współaut. 2005). Poza stymulacją fosforylacji oksydacyjnej, której rezultatem jest zmniejszenie wycieku elektronów i poziomu wolnych rodników, melatonina zwiększa produkcję ATP dostarczając w ten sposób energii dla procesów naprawy uszkodzeń wywołanych przez RFT (LEON i współaut. 2004).

ZASTOSOWANIE TERAPEUTYCZNE MELATONINY

Badania kliniczne wskazują na pozytywną rolę melatoniny w przeciwdziałaniu różnorodnym zaburzeniom snu. Obecnie melatonina jest stosowana jako suplement diety oraz jako lek ułatwiający zasypianie u ludzi w podeszłym wieku, wykazujących niskoamplitudowy rytm melatoniny w osoczu lub długotrwale przyjmujących leki nasenne, pochodne benzodiazepiny; w zespole opóźnionej fazy snu, gdy pacjentom trudno jest zasnąć przed 2–6 rano a obudzić się wcześniej niż o 10–13; przy pracy zmianowej, a także w zespole jet lag, polegającym na desynchronizacji organizmu z powodu szybkiego pokonywania wielu stref czasowych podczas lotów transkontynentalnych (SCHEER i CZEISLER 2005). Substancja ta przesuwaa rytmy okołodobowe; podana późnym popołudniem lub wieczorem przyspiesza fazę rytmu, natomiast podana rano opóźnia ją (LEWY i współaut. 1996, HARDELAND i współaut. 2003). Osoby stosujące melatoninę jako zwykły lek nasenny powinny zażywać ją około 1 godziny przed planowanym snem. Osoby planujące lot transkontynentalny w kierunku wschodnim, w celu uniknięcia jet lag, powinny za-

żyć melatoninę około 4–8 godzin przed fizjologicznym wydzieleniem melatoniny do krwi, zatem dla osób zasypiających zwykle około godziny 22–23 jest to godzina 17. Jeżeli zaś planowana podróż przebiega na zachód, melatoninę należy przyjąć około godziny 7, gdy kończy się czas dobowego wydzielania endogennego hormonu (LATHROP i LENTZ 2001). Melatonina koryguje rytm sen-czuwanie u osób niewidomych; podana około 1 godziny przed fizjologicznym wzrostem poziomu hormonu we krwi poprawia parametry snu, np. wydłuża czas snu oraz zmniejsza czas i ilość drzemek podczas dnia. Melatonina jest również stosowana w zespole Smith-Magenisa, objawiającym się odwróceniem faz rytmu tej substancji. W celu przywrócenia prawidłowego rytmu melatoniny rano podaje się antagonistę receptorów β_1 adrenergicznych, natomiast wieczorem melatoninę.

Jedynie wyżej wymienione zaburzenia snu są wystarczająco klinicznie udokumentowanymi wskazaniem stosowania melatoniny. Inne możliwe sposoby wykorzystania tej substancji nadal są intensywnie badane. Jedną z tych możliwości jest wykorzystanie melatoni-

ny w terapii nowotworów. Badania dotyczące nowotworów doświadczalnych u zwierząt wyraźnie wskazują, że egzogenna melatonina hamuje rozwój i wzrost włókniakomięsaka (łac. *fibrosarcoma*) indukowanego metylocholantracenenem, raka sutka (łac. *carcinoma mammae*) indukowanego dimetylobenzantracenenem u szczurów oraz przeszczepialnych form: czerniaka B16 (łac. *melanoma*) u chomików, gruczolakoraka (łac. *adenocarcinoma*) u szczurów i białaczki u myszy (LENOIR i współaut. 2005). Wiedza na temat wpływu melatoniny na rozwój guzów u człowieka jest ograniczona i niejednoznaczna. O roli tego hormonu w procesie karcynogenezy u człowieka można wnioskować pośrednio z danych wskazujących na obniżone stężenie melatoniny w różnych typach nowotworów, np. raku sutka, trzonu macicy, odbytnicy i gruczołu krokowego.

Onkostatyczne działanie melatoniny zauważono na różnych etapach procesu nowotworowego. Substancja ta, dzięki właściwościom antyoksydacyjnym, może działać podczas fazy inicjacji nowotworu, dezaktywując reaktywne formy tlenu potencjalnie uszkadzające DNA (DEREWECKA-DZIĘGIEL i DZIĘGIEL 1997, ANISIMOV i współaut. 2006). Uszkodzona cząsteczka DNA w przypadku nieprawidłowego procesu naprawy może mutować nadal, inicjując rozwój guza. Aktywność onkostatyczna melatoniny polega również na hamowaniu proliferacji komórek nowotworowych, np. komórek gruczolakoraka (łac. *adenocarcinoma*) prostaty u szczurów, komórek SK-N-SH nerwiaka płodowego (łac. *neuroblastoma*) u człowieka, komórek AH130 oraz komórek AH130 raka wątrobowokomórkowego (łac. *hepatoma*) u szczurów. Antyproliferacyjne działanie melatoniny wyraża się na kilka sposobów. Substancja ta łącząc się ze specyficznymi receptorami błonowymi ogranicza transport kwasu linoleinowego do komórek guza, czego konsekwencją jest obniżenie wewnątrz komórki stężenia kwasu 13-hydroksyoktadekadienoinowego, metabolitu aktywnego mitogenicznie (RAO i współaut. 2006). Melatonina może też wpływać na metabolizm estrogenów modyfikując ekspresję genów receptorów estrogenowych, co prowadzi do zahamowania mitozy komórek guzów hormonozależnych. Ponadto, ta indoloamina wydłuża czas trwania cyklu komórkowego opóźniając fazę S interfazy w stosunku do fazy G₁, hamuje aktywność naskórkowego czynnika wzrostu (ang. epidermal growth factor, EGF) i angiogenezę guza.

Przeciwnowotworowe działanie melatoniny wynika również z możliwości jej oddziaływania z komórkami układu immunologicznego, zarówno poprzez receptory błonowe, jak i jądrowe. Substancja ta stymuluje produkcję interleukiny 2 (IL-2) i 4 (IL-4) oraz zwiększa aktywność tymocytów, limfocytów B i T, komórek NK i fagocytów. Melatonina reguluje ekspresję genów niektórych cytokin: czynnika martwicy nowotworu (ang. tumor necrosis factor α , TNF α), transformującego czynnika wzrostu (ang. transforming growth factor β , TGF β), czynnika wzrostowego komórek macierzystych (ang. stem cell factor, SCF) oraz interferonu γ (IFN γ). Cytoochronne działanie melatoniny w stosunku do komórek układu immunologicznego wynika także z możliwości hamowania ich apoptozy (SAINZ i współaut. 2003). Ponadto, melatonina może być stosowana jako substancja wspomagająca chemioterapię. Zaletą melatoniny jest bowiem jednoczesne zwiększanie skuteczności antynowotworowej cytostatyków, np. doxorubicyny, cisplatyny czy bleomycyny, poprzez hamowanie proliferacji i stymulację apoptozy komórek guza oraz zmiatanie generowanych przez te leki wolnych rodników, które są wysoce toksyczne także dla niezmiennych nowotworowo komórek (REITER i współaut. 2002).

Dzięki zdolności melatoniny do zmniejszenia stresu oksydacyjnego, substancja ta może być wykorzystana w leczeniu chorób człowieka związanych z zaburzeniem równowagi oksydoredukcyjnej w komórce. Wydaje się, że to właśnie stres oksydacyjny, wynikający ze zwiększonej produkcji reaktywnych form tlenu w mitochondriach może zaburzać proces apoptozy. Badania przeprowadzone na szczurach rasy Wistar wskazują, iż po usunięciu szyszynki, a więc gdy stężenie melatoniny krążącej we krwi było niskie, zwiększa się apoptoza komórek centralnego układu nerwowego, podczas gdy egzogenna melatonina hamuje naturalną śmierć neuronów CA1 w hipokampie u tych zwierząt. Zwiększona apoptoza neuronów towarzyszy wielu schorzeniom neurodegeneracyjnym u człowieka, tj. chorobie Alzheimera, Parkinsona, atrofi mięśni rdzenia kręgowego czy płasawicy Huntingтона. Chorobę Alzheimera charakteryzuje nagromadzanie się w mózgu złogów peptydu β -amyloidnego, który stymuluje apoptozę neuronów poprzez zahamowanie działania białka antyapoptycznego Bcl-2 i aktywację proapoptycznego białka Bax (SAINZ i współaut. 2003). W warunkach *in vitro* mela-

tonina zmniejszyła apoptozę o 20% w porównaniu do poziomu, jaki występował w grupie komórek poddanych działaniu wyłącznie peptydu β -amyloidnego. Ponadto, antyapoptyczne działanie melatoniny w komórkach osób chorych na chorobę Alzheimera może wynikać z oddziaływania tej indoloaminy z powstałymi pod wpływem toksycznego amyloidu reaktywnymi formami tlenu, np. H_2O_2 , $OH^\bullet$, $ONOO^-$. Uważa się, że wolne rodniki uczestniczą w procesie zapalnym. Tak więc, ze względu na posiadane właściwości antyoksydacyjne melatoniny można uznać tę substancję za potencjalny środek przeciwzapal-

ny. Melatonina okazała się bowiem skutecznym środkiem przy zapaleniu indukowanym przez zymozan oraz LPS u myszy. MCGEER i MCGEER (2001) sugerują, iż melatonina oraz jej metabolity, AFMK i AMK (N^1 -acetylo-5-metoksykynuramina), mogą działać przeciwzapalnie hamując aktywność cyklooksygenazy (COX-2), enzymu katalizującego reakcję przekształcenia kwasu arachidonowego do prostaglandyn, które zwiększają przepuszczalność naczyń krwionośnych, rozszerzają światło naczyń, są odpowiedzialne przy reakcji zapalnej za zaczerwienienie, obrzmienie i ból (MAYO i współaut. 2005).

CO PRZYNIESIE PRZYSZŁOŚĆ?

Zainteresowanie melatoniną nie słabnie od chwili jej odkrycia. Jest niezwykle ciekawą substancją, zważywszy na prostotę jej budowy, a jednocześnie złożoność pełnionych przez nią funkcji. Chociaż współczesny stan wiedzy dotyczący melatoniny jest zadowalający, ko-

nieczne są nowe badania z wykorzystaniem najnowszych technik molekularnych, które pozwolą na głębsze poznanie mechanizmów antyoksydacyjnego, przeciwzapalnego a w szczególności antykarcinogennego działania melatoniny.

MELATONIN IN MAMMALS – A MULTIPURPOSE COMPOUND

Summary

Melatonin is an indoloamine of widespread distribution in the plant and animal kingdoms. N-acetyl-5-methoxytryptamine is regarded as a hormone as well as paracoid and autocoid. In mammals, melatonin is mainly synthesized by the pineal gland and its biosynthesis exhibits a circadian rhythm which depends on the light conditions and is controlled by the endogenous biological clock (SCN).

This compound exerts a number of receptor mediated actions including chronobiotic effects and very likely has a property to increase the activity of anti-oxidative enzymes. Melatonin also is able to reduce the oxidative stress in a receptor independent way through free radicals' scavenging. People commonly use melatonin as a drug reducing jet lag, insomnia and in the supportive therapy of cancer.

LITERATURA

- ALARMA-ESTRANY P., PINTOR J., 2007. *Melatonin receptors in the eye, location, second messengers and role in ocular physiology*. Pharmacol. Ther. 113, 507–522.
- ALLEGRA M., REITER R. J., TAN D.-X., GENTILE C., TESORIERE L., LIVREA M. A., 2003. *The chemistry of melatonin's interaction with reactive species*. J. Pineal Res. 34, 1–10.
- ANISIMOV V. N., POPOVICH I. G., ZABEZHINSKI M. A., ANISIMOV S. V., VESNUSHKIN G. M., VINOGRADOVA I. A., 2006. *Melatonin as antioxidant, geroprotector and anticarcinogen*. Biochim. Biophys. Acta 1757, 573–589.
- ANTUNES F., BARCLAY R. C., INGOLD K. U., KING M., NORRIS J. Q., SCALANO J. C., XI F., 1999. *On the antioxidant activity of melatonin*. Free Radic. Biol. Med. 26, 117–128.
- ARMSTRONG S. M., 1989. *Melatonin, the internal zeitgeber of mammals?* Pineal Res. Rev. 7, 157–202.
- BARRETT P., CONWAY S., MORGAN P. J., 2003. *Digging deep – structure – function relationships in the melatonin receptor family*. J. Pineal Res. 35, 221–230.
- BARTNESS T. J., DEMAS G. E., SONG C. K., 2002. *Seasonal changes in adiposity, the roles of the photoperiod, melatonin and other hormones, and sympathetic nervous system*. Exp. Biol. Med. 6, 363–376.
- CARDINALI D. P., PÉVET P., 1998. *Basic aspects of melatonin action*. Sleep Med. Rev. 2, 175–190.
- CARDINALI D. P., GOLOMBEK D. A., ROSENSTEIN R. E., CUTRERA R. A., ESQUIFINO A. I., 1997. *Melatonin site and mechanism of action, single or multiple?* J. Pineal Res. 23, 32–39.
- CLAUSTRAT B., BRUN J., CHAZOT G., 2005. *The basic physiology and pathophysiology of melatonin*. Sleep Med. Rev. 9, 11–24.
- DEREWECKA-DZIEGIEL E., DZIEGIEL P., 1997. *Melatonina – fakty, hipotezy, perspektywy terapeutyczne*. Post. Med. Klin. Dośw. 6, 387–394.
- DUBOCOVICH M. L., CARDINALI D. P., GUARDIOLA-LEMAITRE B., HAGAN R. M., KRAUSE D. N., SUGDEN B., VANHOUTTE P. M., Yocca F. D., 1998. *Melatonin receptors. The IUPHAR compendium of receptor*

- characterisation and classification*. IUPHAR Media, London, 187–193.
- DUBOCOVICH M. L., RIVERA-BERMUNDEZ M. A., GERDIN M. J., MASANA M. J., 2003. *Molecular pharmacology, regulation and function of melatonin receptors*. Front. Biosci. 8, d1093–d1108.
- DZIEGIEL P., JETHON Z., MARKIEWICZ-GÓRSKA I., JANUSZEWSKA L., 1997. *Antioxidative role of melatonin in lead-induced intoxication*. Pol. J. Environ. Stud. 6 (Suppl.), 40–42.
- EKMEKCIOGLU C., 2006. *Melatonin receptors in humans, biological role and clinical relevance*. Biomed. Pharmacother. 60, 97–108.
- ERKOÇ Ş., ERKOÇ F., KESKIN N., 2002. *Theoretical investigation of melatonin and its hydroxy isomers*. J. Mol. Str. 587, 73–79.
- GOZZO A., LESIEUR D., DURIEZ P., FRUCHART J. CH., TEISSIER E., 1999. *Structure-activity relationships in a series of melatonin analogues with the low-density lipoprotein oxidation model*. Free Radic. Biol. Med. 26, 1538–1543.
- GUERRERO J. M., POZO D., GARCIA-MAURI O S., OSUNA C., MOLINERO P., CALVO J. R., 2000. *Involvement of nuclear receptors in the enhanced IL-2 production by melatonin in jurkat cells*. Ann N.Y. Acad. Sci. 917, 397–403.
- GULCIN I., BUYUKOKUROGLU M. E., OKTAY M., KUFREVIOGLU O. I., 2002. *On the in vitro antioxidative properties of melatonin*. J. Pineal Res. 33, 167–171.
- GULCIN I., BUYUKOKUROGLU M. E., KUFREVIOGLU O. I., 2003. *Metal chelating and hydrogen peroxide scavenging effects of melatonin*. J. Pineal Res. 34, 278–281.
- HARDELAND R., 2005. *Antioxidative protection by melatonin*. Endocrine 27, 119–130.
- HARDELAND R., POEGGELER B., 2003. *Non-vertebrate melatonin*. J. Pineal Res. 34, 233–241.
- HARDELAND R., COTO-MONTES A., POEGGELER B., 2003. *Circadian rhythms, oxidative stress, and anti-oxidative defenses mechanisms*. Chronobiol. Int. 20, 921–926.
- HARDELAND R., PANDI-PERUMAL S. R., CARDINALI D. P., 2006. *Melatonin*. Int. J. Biochem. Cell Biol. 38, 313–316.
- KARASEK M., 1997. *Szyszyznka i melatonina*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa-Łódź.
- KARBOWNIK M., GITTO E., LEWINSKI A., REITER R. J., 2001a. *Induction of lipid peroxidation in hamster organs by the carcinogen cadmium, amelioration by melatonin*. Cell Biol. Toxicol. 17, 33–40.
- KARBOWNIK M., LEWINSKI A., REITER R. J., 2001b. *Anticarcinogenic actions of melatonin which involve antioxidative processes, comparison with other antioxidants*. Int. J. Biochem. Cell Biol. 33, 735–753.
- KULIKOWSKA-KARPIŃSKA E., MONIUSZKO-JAKONIUK J., 2004. *The antioxidative barrier in the organism*. Pol. J. Environ. Stud. 13, 5–13.
- LAHIRI D., GE Y.-W., SHARMAN E. H., BONDY S. C., 2004. *Age-related changes in serum melatonin in mice, higher levels of combined melatonin and 6-hydroxymelatonin sulfate in the cerebral cortex than serum, heart, liver and kidney tissues*. J. Pineal Res. 36, 217–223.
- LATHROP N. J., LENTZ M., 2001. *Melatonin, light therapy, and jet lag*. Air Med. J. 20, 30–34.
- LENOIR V., DE JONAGE-CANONICO M. B. Y., PERRIN M.-H., MARTIN A., SCHOLLER R., KERDEHUÉ B., 2005. *Preventive and curative effect of melatonin on mammary carcinogenesis induced by dimethylbenz[a]anthracene in the female Sprague-Dawley rat*. Breast Cancer Res. 7, R470–R476.
- LEON J., ACUNA-CASTROVIEJO D., SAINZ R.M., MAYO J. C., TAN D.-X., REITER R. J., 2004. *Melatonin and mitochondrial function*. Life Sci. 75, 765–790.
- LEON J., ACUNA-CASTROVIEJO D., ESCAMES G., TAN D.-X., REITER R. J., 2005. *Melatonin mitigates mitochondrial malfunction*. J. Pineal Res. 38, 1–9.
- LERNER A. B., CASE J. D., TAKAHASHI Y., 1958. *Isolation of melatonin, a pineal factor that lightens melanocytes*. J. Am. Chem. Soc. 80, 2057–2058.
- LEWY A. J., AHMED S., SACK R. L., 1996. *Phase shifting the human circadian clock using melatonin*. Behav. Brain Res. 73, 131–134.
- LIVREA M. A., TESORIERE L., D'ARPA D., MORREALE M., 1997. *Reaction of melatonin with lipoperoxyl radicals in phospholipid bilayers*. Free Radic. Biol. Med. 23, 706–711.
- MAKSIMOVICH A. A., 2002. *Structure and function of the vertebrate pineal gland*. J. Evol. Biochem. Physiol. 38, 1–15.
- MANCHESTER L. C., POEGGELER B., ALVARES F. L., OGDEN G. B., REITER R. J., 1995. *Melatonin immunoreactivity in the photosynthetic prokaryote Rhodospirillum rubrum, implications for an ancient antioxidant system*. Cell. Mol. Biol. Res. 41, 391–395.
- MARNETT L. J., 2000. *Oxyradicals and DNA damage*. Carcinogenesis 21, 361–370.
- MARSHALL K.-A., REITER R. J., POEGGELER B., ARUOMA O. I., HALLIWELL B., 1996. *Evaluation of the antioxidant activity of melatonin in vitro*. Free Radic. Biol. Med. 21, 307–315.
- MAYO J. C., SAINZ R. M., ANTOLIN I., HERRERA F., MARTIN V., RODRIGUEZ C., 2002. *Melatonin regulation of antioxidant enzyme gene expression*. Cell. Mol. Life Sci. 59, 1706–1713.
- MAYO J. C., SAINZ R. M., TAN D.-X., HARDELAND R., LEON J., RODRIGUEZ C., REITER R. J., 2005. *Anti-inflammatory actions of melatonin and its metabolites, N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine (AFMK) and N1-acetyl-5-methoxykynuramine (AMK), in macrophages*. J. Neuroim. 165, 139–149.
- MCGEER P. L., MCGEER E. G., 2001. *Inflammation, autotoxicity and Alzheimer disease*. Neurobiol. Aging 22, 799–809.
- MOLLER M., BAERES F. M. M., 2002. *The anatomy and innervation of the mammalian pineal gland*. Cell Tissue Res. 309, 139–150.
- NELSON R. J., DRAZEN D. L., 1999. *Melatonin mediates seasonal adjustments in immune function*. Reprod. Nutr. Dev. 39, 383–398.
- NIEDZIELA M., LERCHL A., NIESCHLAG E., 1995. *Direct effects of the pineal hormone melatonin on testosterone synthesis of Leydig cells in Djungarian hamsters (Phodopus sungorus) in vitro*. Neurosci. Lett. 201, 247–250.
- NOWAK J. Z., ZAWILSKA J. B., 1998. *Melatonin and its physiological and therapeutic properties*. Pharm. World Sci. 20, 18–27.
- OSTROWSKI K. (red.), 1995. *Histologia*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa.
- PÉVET P., BOTHOREL B., SLOTTEN H., SABOUREAU M., 2002. *The chronobiotic properties of melatonin*. Cell Tissue Res. 309, 183–191.
- PIERI C., MORONI F., MARRA M., MARCHESELLI F., RECHIONI R., 1995. *Melatonin is an efficient antioxidant*. Arch. Gerontol. Geriatr. 20, 159–165.
- PINTOR J., PELAEZ T., HOYLE C. H., PERAL A., 2003. *Ocular hypotensive effects of melatonin receptor agonists in the rabbit: further evidence for an MT3 receptor*. Br. J. Pharmacol. 138, 831–836.
- RAO G. N., NEY E., HERBERT R. A., 2000. *Effect of melatonin and linolenic acid on mammary cancer in transgenic mice with c-neu breast cancer oncogene*. Breast Cancer Res. Treat. 64, 287–296.

- REITER R. J., 1998. *Cytoprotective properties of melatonin, presumed association with oxidative damage and aging*. Nutrition 14, 691-696.
- REITER R. J., 2003. *Melatonin, clinical relevance*. Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab. 17, 273-285.
- REITER R., TANG L., GARCIA J. J., MUÑOZ-HOYOS A., 1997. *Pharmacological actions of melatonin in oxigen radical pathophysiology*. Life Sci. 60, 2255-2271.
- REITER R. J., TAN D.-X., MAYO J. C., LOPEZ-BURILLO S., 2002. *Melatonin, reducing the toxicity and increasing the efficacy of drugs*. J. Pharm. Pharmacol. 54, 1299-1321.
- REITER R. J., TAN D.-X., TERRON M. P., FLORES L. J., CZARNOCKI Z., 2007. *Melatonin and its metabolites: new findings regarding their production and their scavenging actions*. Acta Biochim. Polon. 54, 1-9.
- RODRIGUEZ C., MAYO J. C., SAINZ R. M., ANTOLÍN I., HERRERA F., MARTÍN V., REITER R. J., 2004. *Regulation of antioxidant enzymes, a significant role for melatonin*. J. Pineal. Res. 36, 1-9.
- SAINZ R. M., MAYO J. C., RODRIGUEZ C., TAN D. X., LOPEZ-BURILLO S., REITER R. J., 2003. *Melatonin and cell death: differential actions on apoptosis in normal and cancer cells*. Cell. Mol. Life Sci. 60, 1407-1426.
- SCHEER F. A. J. L., CZEISLER CH. A., 2005. *Melatonin, sleep, and circadian rhythms*. Sleep Med. Rev. 9, 5-9.
- STADTMAN E. R., 1992. *Protein oxidation and aging*. Science 257, 1220-1224.
- STEINHILBER D., BRUNGS M., WERZ O., WIESENBERG I., DANIELSSON C., KAHLEN J. P., NAYERI S., SCHRÄDER M., CARLBERG C., 1995. *The nuclear receptor for melatonin repress 5-lipoxygenase gene expression in human B lymphocytes*. J. Biol. Chem. 270, 7037-7040.
- TAN D.-X., CHEN L. D., POEGGELER B., MANCHESTER L. C., REITER R. J., 1993. *Melatonin, a potent endogenous hydroxyl radical scavenger*. Endocr. J. 1, 57-60.
- TAN D.-X., MANCHESTER L. C., REITER R. J., PLUMMER B. F., HARDIES L. J., WEINTRAUB S. T., VIJAYALAXMI, SHEPHERD A. M. M., 1998. *A novel melatonin metabolite, cyclic 3-hydroxymelatonin, a biomarker of in vivo hydroxyl radical generation*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 253, 614-620.
- TAN D.-X., MANCHESTER L. C., REITER R. J., QI W., 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*. Biochim. Biophys. Acta 1472, 206-214.
- TAN D.-X., MANCHESTER L. C., REITER R. J., PLUMMER B. F., LIMSON J., WEINTRAUB S. T., QI W., 2000. *Melatonin directly scavenges hydrogen peroxide, a potentially new metabolic pathway of melatonin biotransformation*. Free Radic. Biol. Med. 29, 1177-1185.
- TAN D.-X., MANCHESTER L. C., HARDELAND R., LOPEZ-BURILLO S., MAYO J., SAINZ R. M., REITER R. J., 2003. *Melatonin, a hormone, a tissue factor, an autocoid, a paracoid, and an antioxidant vitamin*. J. Pineal Res. 34, 75-78.
- TECLEMARIAM-MESBAH R., TER HORST G. J., POSTEMA F., WORTEL J., BUJIS R. M., 1999. *Anatomical demonstration of the suprachiasmatic nucleus-pineal pathway*. J. Comp. Neurol. 406, 171-182.
- TRICOIRE H., LOCATELLI A., CHEMINEAU P., MALPAUX B., 2002. *Melatonin enters the cerebrospinal fluid through the pineal recess*. Endocrinology 143, 84-90.
- VAN TASSEL D. L., ROBERTS N., LEWY A., O'NEIL S. D., 2001. *Melatonin in plant organs*. J. Pineal Res. 31, 8-15.
- VON GALL CH., STEHLE J. H., WEAVER D. R., 2002. *Mammalian melatonin receptors, molecular biology and signal transduction*. Cell Tissue Res. 309, 151-162.
- WITT-ENDERBY P. A., BENNETT J., JARZYŃKA M. J., FIRES-TINE S., MELAN M. A., 2003. *Melatonin receptors and their regulation, biochemical and structural mechanisms*. Life Sci. 72, 2183-2198.
- ZATTA P., TOGNON G., CARAMPIN P., 2003. *Melatonin prevents free radical formation due to the interaction between β -amyloid peptides and metal ions [Al (III), Zn (II), Cu (II), Mn (II), Fe (II)]*. J. Pineal Res. 35, 98-103.
- ZEITZER J. M., DIJK D., KRONAUER R. E., BROWN E. N., CZEISLER C. A., 2000. *Sensitivity of the human circadian pacemaker to nocturnal light: melatonin phase resetting and suppression*. J. Physiol. 526, 695-702.