



LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA



FACULDADE DE
MEDICINA
LISBOA

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Psiquiatria e Psicologia Médica

Repercussões da Melatonina na Medicina, com especial referência à área Cardiovascular

Carlos Loureiro Siopa

NOVEMBRO'2019



LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA



FACULDADE DE
MEDICINA
LISBOA

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Psiquiatria e Psicologia Médica

Repercussões da Melatonina na Medicina, com especial referência à área Cardiovascular

Carlos Loureiro Siopa

Orientado por:

Professor Doutor Mário Pinto Simões

NOVEMBRO'2019

Resumo

A melatonina constitui nos dias de hoje uma hormona de espectro pouco esclarecido. Os seus efeitos são pleiotrópicos e processam-se por vários órgãos e sistemas, manifestando funções homeostáticas cujos benefícios evidenciam um potencial fundamento para determinar o futuro papel terapêutico da administração de melatonina.

Com base nos efeitos estudados até à data, este papel poderá importar a área cardiovascular cuja explicação constitui um objetivo deste trabalho. O *burden* das patologias a ela relacionadas justifica o interesse em explorar novas possibilidades terapêuticas.

Atualmente a administração de melatonina encerra-se em empregar o seu efeito hipnótico-sedativo na área de Saúde Mental. Seja esta potência protetora cardiovascular estabelecida, poderá a melatonina destacar-se entre os fármacos prescritos nas comorbilidades cardiovasculares de doentes psiquiátricos e assim valerem-se vários dos seus efeitos no mesmo doente.

Embora a extensão da sua distribuição comercial pareça já vasta, o conhecimento das suas funções, atuais e eventuais, não goza o mesmo privilégio.

O Trabalho Final exprime a opinião do autor e não da FML.

Palavras-chave

Melatonina; Cardiovascular; Cardíaco; Vascular

Abstract

Melatonin is presently a lesser understood and broad spectrum hormone. Its effects are pleiotropic and process through several organs and systems, manifesting homeostatic functions which benefits point to a potencial fundament for future therapeutic role determination of melatonin administration.

Regarding present day data, that role may imply the cardiovascular area which explanation stands for a purpose of this work. The related pathologies burden justifies the interest of exploring new therapeutic possibilities.

Currently, the administration of melatonin is contained in using its sedative-hypnotic effect in Mental Health. May this cardiovascular protective effect be established, melatonin could be highlighted amongst other drugs in cardiovascular comorbidities of psychiatric patients, therefore employing various effects in the same patient.

Although the commercial distribution of melatonin seems wide, its function knowledge, current and potential, doesn't enjoy the same privilege.

The Final Work expresses the author's opinion and not of the FML.

Keywords

Melatonin; Cardiovascular; Cardiac; Vascular

Agradecimentos

Ao meu orientador que me concede o privilégio de o ter como exemplo. Honra que suporte no brio das lições que carrega e virtude que ecoa nos seus doentes, esses são a orientação final em que é edificada a sua mestria.

Por todos o que me acompanharam e ajudaram no que alcanço, com eles termino uma etapa.

Ao fascínio em ser.

Conteúdos

Resumo	3
Palavras-chave	3
Abstract	4
Keywords	4
Agradecimentos	5
Glossário	7
Introdução	11
Métodos	12
Efeitos fisiológicos da melatonina	13
Síntese da melatonina	15
O ciclo circadiano no Sistema Cardiovascular	17
A Melatonina como ligando	18
Fontes exógenas de melatonina	19
Efeitos adversos da administração de Melatonina exógena.....	20
Benefício da Melatonina em eventos Cardiovasculares	21
Benefício da Melatonina em outras áreas	41
Obstetrícia	41
Psiquiatria.....	43
Neurologia.....	44
Endocrinologia	51
Oncologia	54
Gastroenterologia	55
Conclusões	56
Referências Bibliográficas	58

Glossário

3 β -HSD – desidrogenase de hidroxisterol-3 β

AANAT – arilalquilamina N-acetiltransferase;

AChE – acetilcolinesterase;

AFMK - N1-acetil-N2-formil-5-methoxiquinuramina;

AMK - N [1]-acetil-5-methoxiquinuramina;

AMPK – proteína cinase ativada por adenosina monofosfato;

ANP – péptido natriurético auricular;

AOPP – produtos proteicos de oxidação avançada;

APP – proteína precursora do amiloide;

ATP – adenosina trifosfato;

ATP-adenosina trifosfato;

AVC – acidente vascular cerebral;

BHE – barreira hematoencefálica;

bpm – batimentos por minuto;

C3-HOM - 3 ciclico-hidroximelatonina;

cAMP – adenosina monofosfato cíclico;

CAT – catalase;

CD - agrupamento de diferenciação;

CDKIs – inibidor de cinase dependente de ciclinas;

cGMP – guanosina monofosfato cíclico;

CKMB - creatinina cinase de tipo miocárdico;

COX-2 – cicloxigenase 2;

CRH – hormona libertadora de corticotrofina;

CV – cardiovasculares;

CYP – citocromo P450;

DEC - Disseminação Extra-Circadiana;

DM – diabetes mellitus;

DNA – ácido desoxirribonucleico;

EAM – enfarte agudo do miocárdio;

ECE-1 – enzima conversora de endotelina-1;

eNOS – sintetase de óxido nítrico endotelial;

ERK1/2 – proteína cinase ativada por mitogéneos 1/2;

ERN's – espécies reativas de nitrogénio;

ERO's – espécies reativas de oxigénio;

ET-1 – endotelina-1;

ETC – cadeia transportadora de elétrons;

FC – frequência cardíaca;

FIV – fertilização in vitro;

FSH – hormona estimulante de folículo;

fTPFI – inibidor do fator tecidual livre;

GABA – ácido gama-aminobutírico;

GAG's – glicosaminoglicanos;

GFAP – proteína fibrilar acida da glia;

GLUT – transportador de glicose;

GnRH – hormona libertadora de gonadotropinas;

GPCR – recetor acoplado a proteína G;

GPx – glutaciona peroxidase;

GRd – glutaciona redutase;

GSH – glutaciona;

GTP – guanosina trifosfato;

HIOMT – hidroxindole-O-metiltransferase;

HO-1 - heme-oxigenase-1;

HTA – hipertensão arterial

HUVEC's - células endoteliais da veia do cordão umbilical humano;

IGF – fator de crescimento insulínico;

IL – interleucina;

i-mtNOS – sintetase de óxido nítrico induzível da mitocôndria;

iNOS – sintetase de óxido nítrico induzível;

LDL – lipoproteína de baixa densidade;

LH – hormona luteínica;

LPS – lipopolissacáridos;

MAPK – proteína cinase ativada por mitogénio;

MDA – malondialdeído;

Mfn2 – mitofusina 2;

miRNA – ácido ribonucleico micro;

MMP's – metaloproteinases de matriz;

MPO – mieloperoxidase;

MPT – transição de permeabilidade mitocondrial;

MPTP – poro de transição de permeabilidade mitocondrial;

mRNA – ácido ribonucleico mensageiro;

MSI - índice de recuperação miocárdica;

MT1/2/3 – recetores transmembranares de melatonina;

mTOR – alvo mamífero da rapamicina;

NADPH - fosfato de dinucleótido de adenina e dihidronicotinamida;

NFE2L2 – fator nuclear derivado de eritrócitos 2 – tipo 2;

NF- κ B – fator nuclear κ B;

NMDA - N-metil D-Aspartato;

NO – óxido nítrico;

NOS – sintetase de óxido nítrico;

NREM – sem movimentos rápidos dos olhos;

PA – pressão arterial;

PDE5 – fosfodiesterase 5;

PECAM-1 - molécula de adesão celular endotelial plaquetária;

PGC-1 α – coativador 1 alfa do recetor ativado por proliferador de peroxissoma gama;

PI-3 K- fosfoinosítídeo 3-cinase;

PKB – proteína cinase B;

PKC – proteína cinase C;

PLC – fosfolipase C;

PPAR γ - receptores ativados por proliferador de peroxissoma tipo γ ;

PVN – núcleo paraventricular;

REM – movimentos rápidos dos olhos

RISK – cinase salvadora da lesão de reperfusão;

ROR/RZR – recetor órfão associado ao recetor de ácido retinóico/ recetor retinóide Z;

SAFE – facilitador do fator ativador de sobrevivência;

SAOS – síndrome de apneia obstrutiva do sono;

SCN – núcleo supra-quiasmático;

SERCA – ATPase de Ca²⁺ do reticulo sarcoplasmático;

sirt1 – regulador de informação silenciosa 1;

SNP's – polimorfismo de nucleótido único;

SNS – sistema nervoso simpático;

SOD – superóxido dismutase;

SRAA – sistema renina-angiotensina-aldosterona;

SRAA - sistema renina-angiotensina-aldosterona;

STAT-3 – transdutor de sinal e ativador de transcrição 3;

STEMI – enfarte do miocárdio com supra-ST;

TCA – ácido tricarbóxico;

TNF- α – fator de necrose tumoral α ;

TPFI - inibidor do fator tecidual;

TRPV1 – recetor de potencial vanilóide transitório 1;

TSH – hormona estimuladora da tiroide;

VCAM-1 - molécula de adesão celular vascular;

ZO-1 - *zonula occludens-1*;

VEGF – fator de crescimento endotelial vascular;

VIP - péptido vasoativo intestinal

Introdução

Os efeitos sistêmicos da melatonina, embora impossíveis de ignorar, são ainda em grande parte um mistério da ciência. Desde efeitos da própria molécula como *scavenger* de radicais livres até à sua ação anti-fibrótica através de uma cascata de sinalização, exerce efeitos benéficos cujo potencial será abordado no presente trabalho.

É uma hormona conhecida há mais de 50 anos e descoberta na glândula pineal de um bovino por Lerner et al. [1] Todavia os seus efeitos parecem pouco explorados. São efeitos sistêmicos e os seus recetores, de membrana e nucleares, servem-lhe de mediadores. Por exemplo, em animais que não a produzem verifica-se disfunção tímica e redução dos valores de leucócitos e eritrócitos. Em macacos há recetores de melatonina nas glândulas suprarrenais que inibem a secreção de cortisol e modulam uma enzima envolvida na síntese de cortisol. Em ratinhos que não a produzem evidenciam-se níveis mais elevados de glicemia e menor sensibilidade à insulina no tecido adiposo. [1]

Estes são apenas alguns dos efeitos da melatonina e para fundamentar o presente trabalho será abordado com especial referência o seu potencial cardiovascular, por forma a assimilar o seu papel na homeostasia em contexto de risco de eventos cardiovasculares e assim inquirir sobre o futuro papel da melatonina na prática clínica. Por exemplo se será escolha a destacar em comorbilidades cardíacas de doentes psiquiátricos e vice-versa, em casos por definir.

Métodos

Para assim atingir os objetivos foi executada uma fórmula de pesquisa numa base de dados científica: PubMed. Esta fórmula reunia os seguintes termos, associados a Medical Subject Headings - Mesh: ((melatonin cardiovascular[MeSH Terms]) OR melatonin cardiac[MeSH Terms]) OR melatonin vascular[MeSH Terms]. Foram restringidos os artigos selecionados aos publicados nos últimos 10 anos, referentes a humanos e escritos em inglês.

Procurou-se com os operadores booleanos selecionados incluir a maior quantidade de informação baseada na evidência científica. Com esta fórmula supranomeada obtiveram-se 68 artigos dos quais se excluíram 4, escritos em russo.

Efeitos fisiológicos da melatonina

Quanto ao seu efeito vascular a melatonina atua genericamente como vasodilatador da aorta e artéria mesentérica.^[1]

Entende-se que os MT2 inibem o “rolamento” leucocitário e os recetores MT3 modulam a sua adesão. ^[1]

Quanto à modulação endócrina o papel da melatonina parecer ser a inibição da secreção de hormona libertadora de gonadotropinas - GnRH –, hormona luteínica – LH - e hormona estimulante de folículo - FSH -, possivelmente via cAMP e guanosina monofosfato cíclico - cGMP. Quando em altas concentrações – 200pg/ml – e durante pelo menos 8 horas a melatonina exerce um efeito estimulatório sobre a secreção de progesterona. Os mecanismos subjacentes e outras interações na secreção de progesterona estendem-se além da complexidade adequada ao presente trabalho. ^[1]

Existem ainda polimorfismos de nucleótido único - SNP's - próximos do gene do MT1 que se correlacionam a maior risco de diabetes *mellitus* 2 - DM2. Esta hormona parece favorecer a produção de glucagon e de fator de crescimento insulínico - IGF. ^[1]

Quando ao trofoblasto a melatonina estimula vias anti-apoptóticas através dos recetores MT1 e MT2. ^[1]

Estabeleceu-se uma correlação positiva entre os níveis de melatonina e o risco de desenvolver cancro de mama. Em modelos de linhas celulares de cancro de mama há expressão de MT1 e nessas células a melatonina inibia reversivelmente a proliferação e invasão celulares. Existe interação entre a via ativada em MT1 e a via ativada pelos recetores de estrogénio neste cancro.

No líquido folicular do ovário defende-se que a melatonina modula a secreção de progesterona pelas células granulosas. Sugere-se que o tratamento com melatonina melhora a qualidade do oócito em ciclos de fertilização *in vitro* - FIV - e protege as células granulosas em transição luteínica do dano causado por espécies reativas de oxigénio - ERO's. Um SNP no gene do MT2 - rs10830963 – é fator de predisposição para síndrome dos ovários poliquísticos. ^[1]

Na pele o efeito da melatonina relaciona-se com a proteção de fibroblastos e queratinócitos da radiação ultravioleta, promove a fase anágena do folículo capilar, possivelmente via MT2 que predomina nestas células, estimula ou inibe a proliferação de queratinócitos dependendo da sua concentração, inibe a apoptose e previne a

carcinogénese. Num ensaio clínico duplamente cego em mulheres com alopecia androgénica, a quem foi administrada melatonina tópica 0,1% diariamente por 6 meses, houve aumento do crescimento folicular apenas nesta alopecia androgénica, não na difusa. [1]

Tecidos	Recetor de Melatonina	Ação da melatonina
SCN	MT2	Regulação do ciclo circadiano
Retina	MT2, ROR α	Inibe secreção de dopamina
Vasos	MT1, MT2	MT1: vasoconstritor MT2: vasodilatador
Sistema imune	MT1, MT2, ROR α	Inibe “rolamento” leucocitário Promove proliferação Estimula produção de IL-2 e IL-6
Sistema reprodutivo	MT1, MT2	Inibe secreção de GnRH, LH, FSH
Pâncreas	MT1, MT2, ROR α	Inibe secreção de insulina
Pele	MT1, MT2, ROR α	Regula crescimento capilar Regula funções epidérmicas
Trato gastrointestinal	MT1, MT2	Inibe contração gástrica, peristalse Inibe a ação da serotonina Inibe secreção de bicarbonato, amílase e colecistoquinina
Tecido ósseo	MT1, ROR α	Estimula atividade osteoblástica Inibe atividade osteoclástica
Rim	MT1, MT2	Protege de inflamação Regula a filtração
Placenta	MT1, MT2, ROR α	<i>Scavenger</i> de ERO's Inibe apoptose
Útero	MT1, MT2	Regula contratibilidade do miométrio
Endométrio	MT1, MT2	Regula invasão trofoblástica no início da gestação

Tabela 1. Efeitos fisiológicos da melatonina nos diferentes tecidos. Verificam-se distintas interações sistémicas cujos mecanismos até à data não são completamente compreendidos.

Adaptado e traduzido de [1].

No trato gastrointestinal encontram-se enzimas como as arilalquilamina N-acetiltransferase – AANAT – e hidroxindole-O-metiltransferase – HIOMT - que são essenciais na síntese de melatonina, sugere-se que esta possa localmente ser produzida além de que as concentrações nestes órgãos pode ser 10 a 100 vezes superior à encontrada no soro. Aqui atua de forma antagônica à serotonina. Via MT2 aumenta a secreção de bicarbonato por modular o fluxo de Ca^{2+} nas células enterocromafins e pelo mesmo recetor aumenta a secreção de amílase e colescistoquinina pancreáticas. Revela-se ainda um papel benéfico no tratamento ou prevenção de úlceras. ^[1]

No osso esta hormona estimula a diferenciação osteoblástica e fortalecimento ósseo, favorece o efeito da osteoprotegerina e inibe a ação osteoclástica. ^[1]

Síntese da melatonina

A síntese da melatonina é regulada por estímulos luminosos. Nos vertebrados superiores a via neuronal responsável pela sua regulação é processada de forma indireta. Com origem nas células ganglionares da retina é composta de mais 4 sinapses: primeiro no núcleo supraquiasmático – SCN-, seguindo-se o núcleo paraventricular – PVN -, o gânglio cervical superior e finalmente a glândula pineal. Assim dá início a sua atividade sintética. ^[2]

Os níveis de melatonina aumentam em circulação tendo como precursor a serotonina que através da atividade das enzimas AANAT e HIOMT, forma a melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina), atuando a primeira enzima como *rate-limiting* do processo. Apesar da transcrição desta enzima ser constante ao longo do dia esta exerce de forma particular a sua função reguladora: a estabilidade bioquímica desta enzima aumenta através da estimulação noradrenérgica exercida pelo gânglio cervical superior nos pinealócitos, aumentando a concentração intracelular de adenosina monofosfato cíclico - cAMP - que ativa uma cinase que fosforila a própria enzima AANAT, por fim interage com uma proteína que impede a sua degradação e aumenta também a sua afinidade pelo substrato.

A síntese desta hormona dá-se por estímulos simpáticos com origem nas células da coluna intermediolateral que sinapsam no gânglio cervical superior e depois na

glândula pineal, através dos adreno-recetores β e α -1 existentes nos pinealócitos. Por sua vez o PVN sinapsa com as células da coluna intermediolateral que controlam o tónus vascular e a pressão arterial - PA -, este núcleo paraventricular é inibido por aferências mediadas por ácido gama-aminobutírico - GABA - com origem central. Neste sentido a melatonina poderá estar incluída num sistema de *feedback* negativo que contra-regula o *drive* excitatório para o sistema nervoso simpático - SNS. Esta explicação poderá ter como base o seu efeito no aumento do estímulo GABAérgico no PVN, o fato de aumentar a biodisponibilidade de óxido nítrico – NO - poderá estar na base deste efeito de potenciação do estímulo por GABA, pois o NO aumenta o poder inibitório deste neurotransmissor, embora possa haver outras vias de potenciação deste efeito. É possível ainda que a melatonina exerça modificações epigenéticas nos neurónios da área postrema, envolvidos na regulação da pressão arterial. Com efeito regista-se que os níveis despertinos de melatonina estão aumentados nos doentes hipertensos não tratados em comparação com os tratados. Os níveis de melatonina manifestam relação com os valores da PA e a sua associação terapêutica a outros anti-hipertensores é já estudada. [3]

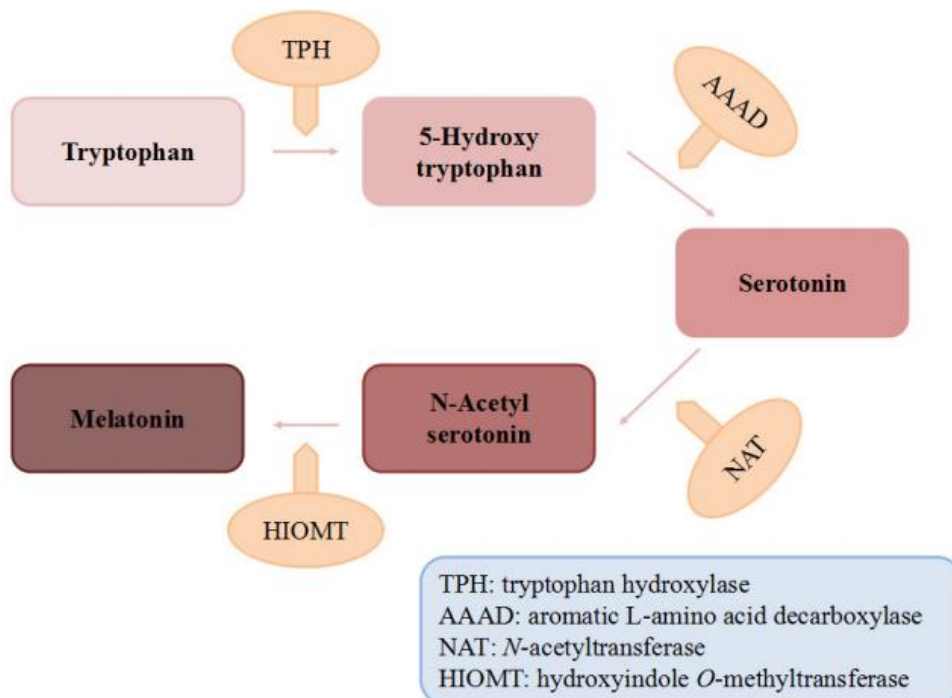


Figura 1. Via biossintética da Melatonina. [7]

O ciclo circadiano no Sistema Cardiovascular

Verifica-se um ciclo circadiano também associado a eventos adversos como os cardiovasculares - CV - que são mais frequentes de manhã, as convulsões epiléticas temporais no fim da tarde e a asma que agrava de noite. ^[4]Com este trabalho iremos abordar as primeiras mas, em particular, a relação da melatonina com todo o sistema CV uma vez que a evidência mais recente sugere que estes órgãos envolvidos têm por si um sistema circadiano controlado pelo SCN, mas em parte passível de autorregulação, segundo trabalhos nos quais se verifica que estes tecidos mantem o seu ciclo circadiano *in vitro*. ^[4]

Verifica-se que a frequência cardíaca - FC - segue um ritmo circadiano tal que varia cerca de 7 bpm – batimentos por minuto -, com um pico entre as 11:00 e as 12:00 horas, com vale durante o sono. Em ratinhos verifica-se que a lesão no SCN anula este ciclo circadiano. Também em ratinhos se descobriram vias neuronais que ligam o SCN ao PVN e que seguem para o núcleo dorsal do vago e para a coluna intermediolateral da espinhal medula: desse modo modulando a atividade autonómica do coração; com o mesmo protocolo encontraram-se eferências para vasos, rins, suprarrenais, fígado, pâncreas e tecido adiposo. E da mesma forma a PA sistólica que varia cerca de 3-6 mmHg com pico cerca das 21:00 horas e vale por cerca das 9:00 horas. ^[4]

Um dado curioso é que as concentrações de melatonina na membrana celular, citosol, núcleo e mitocôndrias variam independentemente do ciclo circadiano. É possível que estes valores sejam regulados pela necessidade de antioxidantes, existindo um equilíbrio interno no qual a concentração de melatonina nestes compartimentos varia mediante a sua necessidade antioxidante. ^[5]

A Melatonina como ligando

Apesar de exercer a sua ação em recetores transmembranares – MT1, MT2 e MT3 – a melatonina tem uma estrutura lipofílica que lhe permite exercer função em recetores nucleares. [2].

O ácido ribonucleico mensageiro - mRNA - do recetor MT1 está distribuído pelo hipotálamo, cerebelo, córtex frontal, *nucleus accumbens*, amígdala e hipocampo. Os transcritos associados ao recetor MT2 estão distribuídos pelo hipocampo.[6]

O recetor MT1 foi clonado apenas nos anos 90. É um recetor acoplado a proteína G - GPCR - e é expresso no cérebro: hipotálamo, cerebelo, hipocampo, *substância nigra* e área tegmental ventral; sistema CV, imune, testículos, ovários, pele, fígado, rim, córtex suprarrenal, placenta, mama, retina, pâncreas e baço. [1]

O recetor MT2 foi clonado na mesma década, um ano depois, e também é um GPCR. É encontrado no sistema imune, vasos, testículos, cérebro: hipotálamo, núcleo supraquiasmático, retina, glândula pituitária, rim, trato gastrointestinal, mama, tecido adiposo e pele. [1] Genericamente o MT1 é anticonvulsivante e vasoconstritor e MT2 vasodilatador. [1]

O recetor MT3 não foi encontrado em humanos, mas sabe-se que é expresso no hamster. Não é um recetor acoplado a proteína G e encontra-se no fígado, rim, coração, tecido adiposo e cérebro. No coelho encontra-se ainda na retina. [1]

Os recetores nucleares são da família do recetor órfão associado ao recetor de ácido retinóico/ recetor retinóide Z - ROR/RZR. Os RZB β encontram-se nos neurónios e os RZR α no tecido adiposo, pele, testículos, cartilagem e fígado. Embora atualmente se conteste a hipótese de que a melatonina atue diretamente nestes recetores ou se, como alguns sugerem, os modula via MT1. [1]

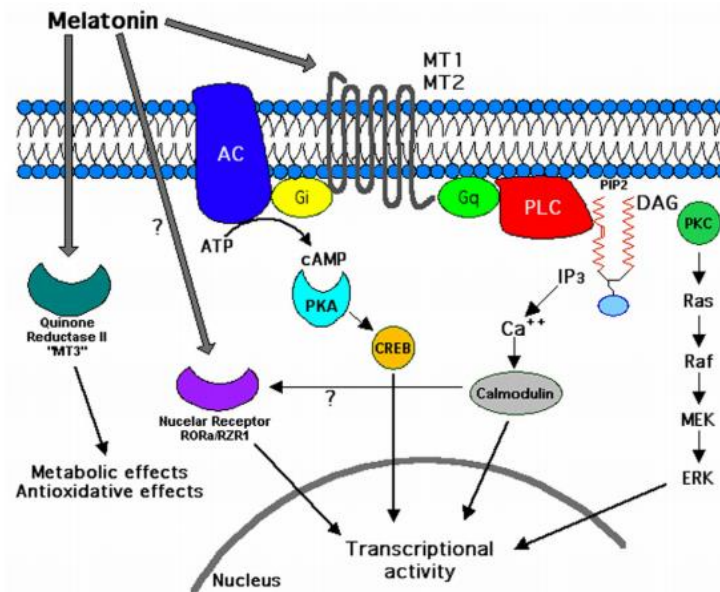


Figura 2. Ação da melatonina sobre diferentes subtipos de receptores. Note-se a sua ação em receptores membranas - MT1, MT2 e MT3 - bem como nucleares - ROR α /RZR1. Os receptores MT3 não foram até à data encontrados em humanos. ^[1]

Fontes exógenas de melatonina

Além do processo da sua síntese endógena, o organismo obtém níveis circulantes desta hormona através da dieta. Em maior concentração pode ser encontrada em ovos, peixes e pistácios. Ainda na dieta se destacam um estudo em particular que quantificou a concentração mássica no tomate do qual obtiveram níveis significativos de melatonina quando em comparação com a dose de melatonina recomendada em suplementação oral que é 1 mg. Por exemplo, para cada grama do cogumelo *Lactarius deliciosus* (peso fresco) espera-se cerca de 12.900 ± 770 ng de melatonina. ^[7]

Quando administrada na forma de suplementação oral apresenta reduzida biodisponibilidade possivelmente por baixa absorção oral e um elevado metabolismo de primeira passagem. ^[7]. Quando a fonte é o leite animal a concentração de melatonina é influenciada pelo ciclo circadiano respetivo, estando comprovada esta variação no colostro pelo que o recém-nascido pode beneficiar desta fonte enquanto não desenvolve um mecanismo de excreção rítmico próprio, durante 9 semanas nos lactentes de termo e 2 a 3 semanas mais tarde nos de pré-termo. ^[8].

Foi ainda encontrada uma correlação negativa entre o consumo de carnes vermelhas e os níveis circulantes de melatonina.^[9] Estando esta dieta associada a um maior risco de cancro mamário sugerindo-se haver associação entre os níveis desta hormona e o risco de cancro da mama invasivo em mulheres pós-menopáusicas.^[10]

Dada a excreção renal desta hormona a sua biodisponibilidade oral é comumente avaliada através dos níveis urinários de 6-sulfatoximelatonina, um metabolito major do seu metabolismo.^[9] A concentração deste último metabolito na urina está associada à concentração de melatonina no sangue e saliva.^[10] Na saliva refere-se que a concentração de melatonina pode ser modulada pela postura corporal.^[11] Verifica-se ainda que a medição da sua concentração na primeira urina da manhã é um bom indicador da concentração plasmática de melatonina na noite anterior.^[10] Existem 3 vias de degradação: a clássica – hepática - que produz 6-hidroximelatonina nos citocromos CYP1A1, CYP1A2 e CYP1B1 ou forma N-acetilserotonina nos citocromos CYP2C19 ou CYP1A; a alternativa que produz ácido acético 5-metoxiindole ou 5-metoxitriptofol; e a via quinúrica que produz N1-acetil-N2-formil-5-methoxiquinuramina. Foi ainda descrita outra via de degradação no citocromo C das mitocôndrias que culmina na produção de N1-acetil-N2-formil-5-methoxiquinuramina.^[11]

Em indivíduos saudáveis pode-se esperar que a concentração sérica de melatonina atinja valores de cerca de 250 pg/ml. As formulações disponíveis de melatonina exógena com cerca de 3 a 5 mg elevam estas concentrações a mais de 100 vezes.^[12] O tempo de semi-vida da melatonina é de cerca de 15-20 minutos.^[13]

Um estudo em humanos registou uma biodisponibilidade de 15% para a melatonina administrada por via oral.^[7]

Efeitos adversos da administração de Melatonina exógena

Segundo os estudos em modelos animais podemos reportar a segurança a curto termo da administração de melatonina, mesmo em doses muito altas – 200mg/kg/dia – e durante gestação. Um estudo foi feito para avaliar os seus efeitos adversos e concluiu que doses acima de 10mg ainda precisam de ser estudadas quanto ao perfil de segurança em humanos.^[6]

A melatonina é considerada um suplemento alimentar seguro. Estão identificados efeitos adversos como sonolência, fadiga e hipotermia. Existe um estudo de caso americano que identificou a ocorrência de 2 casos de endocardite infecciosa por *Ranulicatella adiacens* e posteriormente por *Streptococcus salivarius (viridans)* culminando na necessidade de substituição valvular da válvula aórtica. Este caso deveu-se, contudo, à injeção intravenosa para uso recreacional desta hormona, sendo que as condições não assépticas foram a causa eleita para as endocardites. É de referir no entanto que o doente em questão – com antecedentes de depressão e ideação suicida - referia uma sensação inicial de euforia quando injetava os comprimidos de melatonina - 5mg esmagados e diluídos em água - tendo-o feito varias vezes por semana, no máximo 2 vezes por dia e desde os últimos 2 anos.^[14] Refere-se que este caso de 2016 parece ser o único relato de estados eufóricos associados a esta hormona, tendo contudo pouco rigor científico: a euforia poderia ser devida a placebo associada à expectativa do doente em relação ao efeito da injeção; não parece ser possível confirmar que este efeito não se devia ao uso concomitante e inapropriado de outras substâncias; a hipotética euforia referida pelo doente não foi presenciada mas referida, pelo que poderá ter um significado diferente do seu sentido formal; a euforia poderia ser devida a perturbação mental.^[14]

Benefício da Melatonina em eventos Cardiovasculares

Vários estudos têm sugerido um papel para a melatonina em contexto de lesões por stress oxidativo. Um exemplo destas são as lesões por isquemia-reperfusão. Tomemos o exemplo do enfarte agudo do miocárdio cuja estratégia mais eficaz na redução da zona de enfarte é a intervenção coronária percutânea. Por sua vez está envolvida em lesão oxidativa de isquemia-reperfusão.^[15] A origem desta lesão oxidativa poderá estar na disfunção mitocondrial associada à permeabilidade dos seus poros, efeito este que a melatonina indica prevenir.^[15]

Assim em 2017 decorreu um ensaio duplo-cego controlado com placebo e aleatorizado que inclui 48 participantes (24 controlos e 24 tratados) e avaliou a repercussão clínica da administração intravenosa ou intracoronária de 50 mg de melatonina em fase pós-enfarte agudo do miocárdio com elevação do segmento ST submetidos a intervenção coronária percutânea nas primeiras 6 horas de início dos

sintomas. No 4º dia de intervenção foram feitas ressonâncias magnéticas cardíacas aos participantes e avaliado o *outcome* primário: índice de recuperação miocárdica - MSI - e medidos valores de troponina T de alta sensibilidade, creatinina cinase de tipo miocárdico - CKMB -, que foram registados antes da intervenção e depois de 6, 24, 72 e 96 horas. Também foram medidos marcadores oxidativos e inflamatórios bem como de melatonina sérica 24 horas depois da intervenção. Os *outcomes* secundários foram avaliados por tamanho da zona de enfarte, obstrução microvascular, volumes ventricular esquerdo tele-diastólico e tele-sistólico e fração de ejeção esquerda - por parâmetros analíticos - de enfarte miocárdico, de stress inflamatório e oxidativo através de mieloperoxidase - MPO -, malondialdeído - MDA - e produtos proteicos de oxidação avançada - AOPP - e por registo de eventos clínicos a 90 dias. Dos iniciais 48 participantes seguiram 41 até ao fim do protocolo sendo que os restantes foram analisados mediante os *outcomes* secundários analíticos e de eventos clínicos a 90 dias. O tempo de internamento entre grupo placebo e grupo da melatonina foi semelhante, o *outcome* primário foi também semelhante e nenhum dos parâmetros secundários avaliados por ressonância magnética cardíaca variou com significância sendo que feita a regressão multivariada não se evidencia qualquer associação entre o grupo tratado e o valor de MSI. Os valores analíticos de isquemia miocárdica não variaram entre os grupos e a melatonina também não reduziu os valores de marcados de inflamação ou oxidação.

Este estudo não demonstra qualquer efeito da melatonina na redução da lesão de isquemia-reperfusão por enfarte do miocárdio com supra-ST - STEMI. O ensaio seguiu a linha de investigação anteriormente feita em modelos de corações isolados de rato com resultados discordantes com os apresentados evidenciando o papel da melatonina na estabilização mitocondrial e conseqüentemente redução da lesão de isquemia-reperfusão reduzindo o tamanho da zona de enfarte, reduzindo a apoptose das células e melhorando os parâmetros hemodinâmicos. ^[15]

Dois ensaios aleatorizados e controlados por placebo avaliaram os efeitos cardioprotetores da melatonina durante cirurgia de revascularização coronária por bypass e durante cirurgia vascular major. Mas em vez da administração de melatonina após o evento isquémico nestes estudos esta foi feita antes da indução de isquémica e oralmente; obtiveram uma redução nos níveis séricos de troponina e melhoraram *outcomes* de morbidade cardíaca. ^[15] É referido o efeito da melatonina na indução da translocação nuclear e inibição de degradação do fator de transcrição fator nuclear derivado de eritrócitos 2 – tipo 2 - NFE2L2 - que aumenta a síntese de enzimas antioxidantes.

Estimula também o fator de transcrição coativador 1 alfa do recetor ativado por proliferador de peroxissoma gama - PGC-1 α - que induz o NFE2L2. ^[15] Neste sentido é discutível se o efeito cardioprotetor da melatonina teria sido evidenciado perante uma administração anterior à lesão de isquemia-reperfusão, pelo que no ensaio descrito não teria hipoteticamente decorrido o período necessário para estabelecer o seu efeito.

Embora se tenha pelo menos uma vez demonstrado um efeito até adverso na remodelação do ventrículo esquerdo após enfarte do miocárdio – com aumento dos volumes tele-sistólico e tele-diastólico do ventrículo esquerdo e inferior fração de ejeção esquerda - continuaram-se os estudos através de modificações de variáveis como o tempo de intervenção. Já quanto a este efeito adverso pensa-se que seja devido a um efeito da melatonina em estimular o miocárdio a acumular mais glicosaminoglicanos - GAG's - e colagénio no pós-enfarte^[16].

Depois de um estudo concluir um papel nulo da melatonina como terapêutica adjunta no enfarte agudo do miocárdio tratado com angioplastia foi feita uma análise *post-hoc* que demonstrou que a melatonina administrada menos de 2,5 horas antes do início dos sintomas de enfarte reduz a zona de isquemia em aproximadamente 40%, quando medida por ressonância magnética cardíaca. ^[16] Este estudo reflete o que a evidência experimental parece demonstrar quanto aos mecanismos na base da lesão por isquemia-reperfusão que diferem consoante a duração do período de isquemia. Outro estudo defende também o efeito cardioprotetor da melatonina quando administrada 5 dias previamente a cirurgia de bypass coronário: evidenciado por menor dano miocárdico no período peri-operatório. ^[16]

Um estudo com base em culturas celulares procurou analisar o efeito protetor ou não da melatonina perante danos cardíacos causados pela ativação da angiotensina II: cardiomiopatia hipertrofia. Concluiu que a via de sinalização envolvida no dano causado pela angiotensina II envolve a produção de ERO's. Esta produção pode ser bloqueada pelo pré-tratamento com melatonina, com efeito concentração-dependente. Nos resultados destaca-se o efeito que a melatonina teve em inibir a hipertrofia induzida pela angiotensina II. Este efeito por sua vez é exercido através da inibição de expressão da via CyPA/CD147 cuja ativação, por angiotensina II, induz hipertrofia celular. ^[17]

Numerosos estudos têm correlacionado a produção excessiva de ERO's e a hipertrofia cardíaca induzida por angiotensina II. ^[17]

Estudos anteriores terão associado este efeito cardioprotetor à ativação das vias da proteína cinase B - PKB -, cinase de Notch1/mitofusina 2 - Mfn2 - regulada por sinais

extracelulares e pelo sinal ativador e transdutor 3 durante períodos de isquemia-reperfusão, inibindo a transição de permeabilidade mitocondrial - MPT - via de ativação de poros da membrana mitocondrial que culminam em apoptose. [17]

Um estudo procurou analisar a relação entre a resposta a terapia de ressincronização cardíaca os níveis séricos de melatonina antes desta intervenção, em doentes com insuficiência cardíaca e dissincronia ventricular. Depois de um ano de seguimento verificou-se que os níveis melatonina (medidos durante o dia) eram significativamente inferiores no grupo que não respondeu beneficemente à terapia de ressincronização cardíaca, no que toca aos parâmetros de remodelação reversa do ventrículo esquerdo. [18]

Um estudo em modelos animais com hipertensão obtiveram menos risco de desenvolver arritmias fatais quando suplementados com melatonina, este efeito parece ser atribuído à reparação das anomalias na conexina-3 do miocárdio estando associado à preservação da arquitetura deste musculo. [19]

Existem diversos mecanismos propostos para a redução da pressão arterial pela melatonina, seja pela sua ação no hipotálamo, pelos efeitos antioxidantes ou pela redução dos valores catecolaminérgicos, possivelmente através da sua redução nos níveis de serotonina que por si teria um efeito simpaticomimético. Os doentes com hipertensão arterial primária ou doença coronária têm níveis inferiores de melatonina em comparação com controlo. Está também sugerido que tem um papel antiarrítmico possivelmente através da sua ação como *scavenger* de ERO's. É também sugerido que este feito é exercido através da via conexina 43 cuja transcrição génica é estimulada pela melatonina pela sua ação direta nos recetores MT1 e MT2, sendo a sua ação enquanto *scavenger* de ERO's independente de recetores. [19]

Atualmente a patologia cardiovascular mantém-se como causa principal de mortalidade e morbidade no mundo. Como agravantes verifica-se o aumento da incidência de hipertensão arterial - HTA – e DM. Uma das linhas terapêuticas é o bloqueio da estimulação simpática no sentido de reduzir a frequência cardíaca, e os fármacos beta-bloqueantes ou a ivabradina são exemplos disso. O estudo *Framingham* identificou a frequência cardíaca em repouso como fator de risco independente para mortalidade de causa global, cardiovascular ou não. Apesar disso um estudo norueguês com cerca de 380 000 participantes de meia idade com e sem patologia cardiovascular foram incluídos no follow-up que sugere que a frequência cardíaca aumentada em doentes idosos seria

apenas um marcador de risco cardiovascular em vez de um fator de risco independente.
[3]

A melatonina tendo como efeito o aumento da biodisponibilidade de NO reduz a PA e exerce um efeito cardioprotector, além de o exercer por outras vias já descritas. Estas vias estão em destaque num estudo de revisão que avaliou o seu potencial terapêutico pela redução da frequência cardíaca.

Os efeitos bradicardizantes da melatonina foram já testados em modelos de ratinhos: quando administrada 30-60mg/kg a ratinhos saudáveis registava-se uma redução dose-dependente na FC, PA média e na secreção de serotonina no corpo estriado e hipotálamo. Este efeito era anulado após vagotomia bilateral. Em ratinhos com hipertensão espontânea, a melatonina é associada a redução nos níveis séricos de norepinefrina e renina.^[3]

Um estudo controlado com placebo em humanos verificou que a administração de 2 mg de melatonina estava associada a redução nos níveis séricos de norepinefrina e dopamina, um aumento na variabilidade da FC, uma redução da PA e FC; isto após uma hora.^[3]

Outro estudo com participantes idosos hipertensos vs. normotensos verificou que a administração de 1,5 mg de melatonina na hora de deitar estava associada a uma redução na PA sistólica e na FC entre as 3:00H e 8:00H da manhã, sendo este período mais associado a risco cardiovascular. Quando avaliado o seu efeito em doentes com Síndrome de Taquicardia Postural verificou-se que em comparação com placebo a melatonina exercia um efeito significativamente superior na redução da FC em posição ortostática.^[3]

Um padrão de variabilidade de FC associado a pior prognóstico é o *nondipping* e este fenómeno poderá estar associado ao tónus do SNS aumentado, estes doentes têm também um ratio noite/dia de melatonina inferior. Um estudo no Japão procurou correlacionar os padrões de variação nos níveis de melatonina com a variação na FC durante o sono em obesos. Os resultados revelaram que os doentes com maior FC durante o sono tinham menor concentração de melatonina durante o Inverno.^[3] Pensa-se que o efeito simpaticolítico da melatonina possa ser usado para tratar doentes com padrões *nondipping* de FC ou até que taquicardizam durante a noite, quando administrada antes de deitar.

Está também descrito que a melatonina melhora o perfil lipídico, reduz a resistência a insulina e inibe o desenvolvimento do síndrome metabólico.^[3]

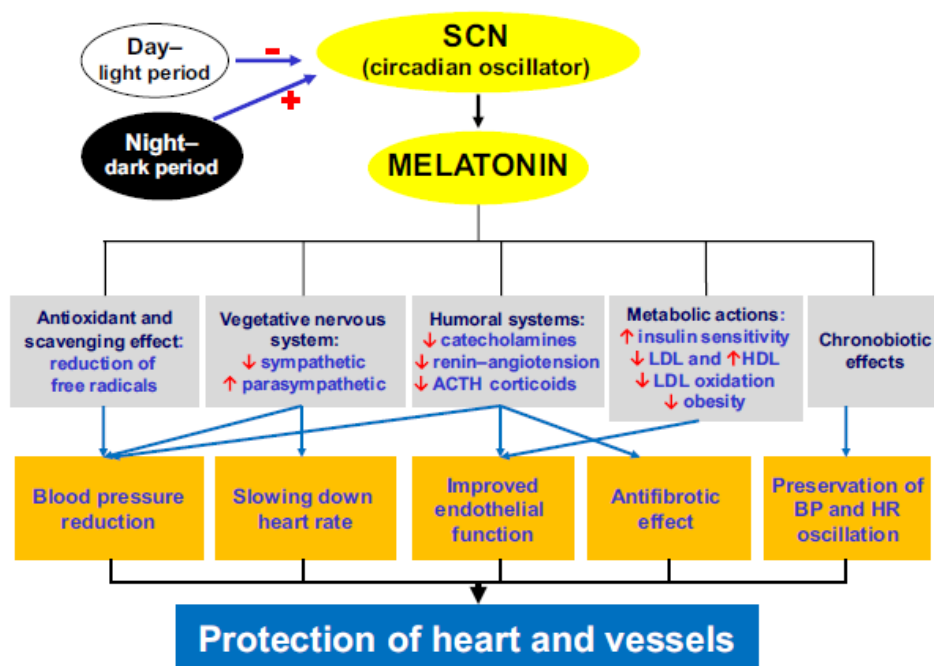


Figura 3. Ação cardiovascular da melatonina. Evidencia-se como uma substância de efeitos pleiotrópicos: antioxidante, hipotensora, anti-fibrótica, parassimpaticométrica/simpaticolítica, inibitória do SRAA e que mantém o ciclo circadiano da PA e FC. [3]

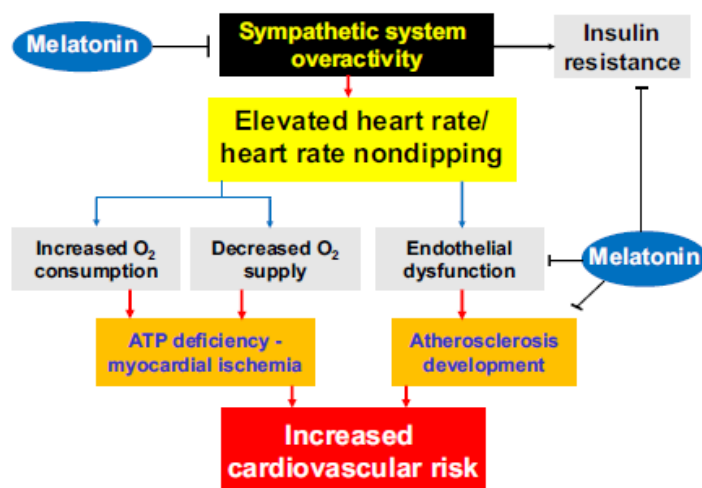


Figura 4. Efeitos deletérios do SNS sobre o sistema CV. Este predomínio leva ao aumento das necessidades metabólicas do miocárdio predispondo a eventos isquêmicos; leva também a um aumento do fluxo pulsátil e consequentemente a disfunção endotelial que predis põe por si a aterosclerose, elevando o risco de eventos isquêmicos. A Melatonina atua na raiz do problema através da sua ação simpaticolítica. [3]

Num estudo em modelos de ratinhos comprovou-se o efeito cardioprotetor da melatonina perante lesões de isquemia-reperfusão. Os resultados demonstraram que houve redução da apoptose do miocárdio, do stress oxidativo e ainda melhor a função cardíaca; este estudo destaca que este efeito é mediado pela via de sinalização da cinase salvadora da lesão de reperfusão - RISK - e do facilitador do fator ativador de sobrevivência - SAFE. Outra via de stress implicada envolve o reticulo endoplasmático, que em situações de isquemia promove a apoptose, e esta também foi atenuada pelo tratamento com melatonina e através das vias RISK e SAFE.^[20]

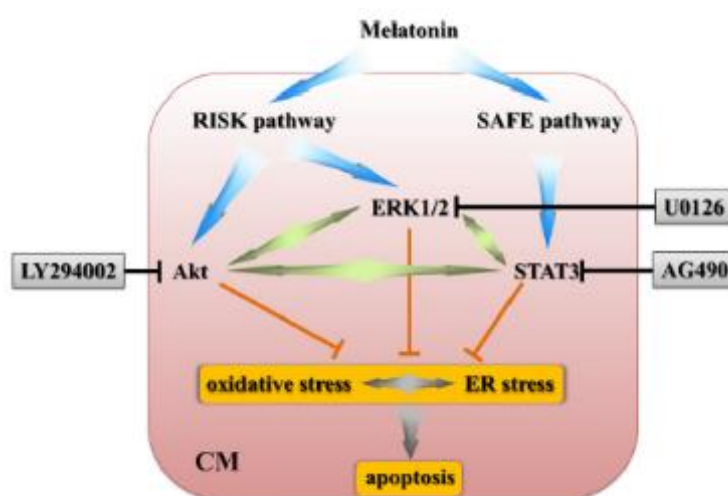


Figura 5. Vias RISK e SAFE responsáveis pelo mecanismo cardioprotetor ilustrado, exercido pela Melatonina. CM – cardiomiócito; SAFE – facilitador do fator ativador de sobrevivência; RISK – cinase salvadora da lesão de reperfusão; ^[20]

Um dos mecanismos envolvido no dano endotelial é o aumento de permeabilidade por mediadores inflamatórios, tal como acontece na aterosclerose. A proteção contra este mecanismo permite manter a integridade da função de barreira endotelial e prevenir a doença vascular crônica.

A melatonina na sua constituição química tem um grupo 5-metoxi com função inibidora da cicloxigenase 2 - COX-2 - através do bloqueio de vias como a do fator nuclear $\kappa\beta$ - NF- $\kappa\beta$ -, também atua como bloqueadora da permeabilidade endotelial aumentada por efeito da IL-1 β . ^[21]

Sabe-se que o tabaco provoca a disrupção endotelial da barreira hematoencefálica - BHE -, com efeito proporcional à carga tabágica. Aumento o risco de acidente vascular

cerebral - AVC – e de enfarte agudo do miocárdio - EAM - em cerca de 50%. Sabe-se ainda que num status pós-AVC a disrupção da BHE é agravada pela carga tabágica. No sentido de prevenir este dano crónico causado pelo tabagismo foi avaliado o efeito da melatonina, entre outros antioxidantes. Ficou comprovado que reduzia a secreção de IL-6 e IL-8 pelo endotélio da BHE em resposta ao fumo do tabaco, com efeito dose-dependente. Também a síntese de fator de crescimento endotelial vascular - VEGF – foi reduzida, no caso da melatonina mesmo com baixas doses. Perante o pré-tratamento com melatonina, a expressão de molécula de adesão celular endotelial plaquetária - PECAM-1 -, molécula de adesão celular vascular - VCAM-1 - e E-selectina foi reduzida face ao dano causado pelo fumo do tabaco. Revelou-se assim uma redução na adesão de monócitos ao endotélio. [22]

A hipoxia intermitente crónica é uma lesão que ocorre tipicamente no síndrome de apneia obstrutiva do sono - SAOS - e se caracteriza por hipertensão, doença arterial coronária e hipertrofia miocárdica. Este último processo ocorre por defeitos na autofagia miocárdica e considera-se que este mecanismo é protetor dentro de limites fisiológicos, quando reduzido ocorre hipertrofia, quando excessivo ocorre atrofia. É regulado pela via da proteína cinase ativada por adenosina monofosfato - AMPK - que estimula este mecanismo quando ativada, prevenindo da hipertrofia ou lesões isquémicas. A melatonina atua aumentando o efeito desta via por estimular a AMPK evidenciando um papel protetor nas lesões de hipoxia intermitente crónica. Verificou-se inclusive que aumentou o número de auto-fagossomas. Demonstrou-se com este estudo *in vitro* que a autofagia tem função preventiva de hipertrofia do miocárdio em contexto de SAOS. [23]

Uma revisão abordou o papel protetor da melatonina perante a cardiotoxicidade da doxorrubicina, esta lesão ocorre pela geração de ERO's, dano no ácido desoxirribonucleico - DNA - mitocondrial, modulação da atividade da sirtuina mitocondrial, morte celular e insuficiência bioenergética – defeitos na cadeia respiratória através de múltiplas vias. O dano mitocondrial é um centro da atenção neste mecanismo uma vez que é alvo deletério da doxorrubicina – no qual este fármaco se acumula a concentrações 100x superiores às no plasma - e é um organelo particularmente abundante no tecido cardíaco.

As manifestações clínicas podem ser agudas, subagudas ou crónicas e terminam em insuficiência cardíaca. O prognóstico é reduzido e 50% dos doentes no *cohort* estudado morreu em 2 anos.

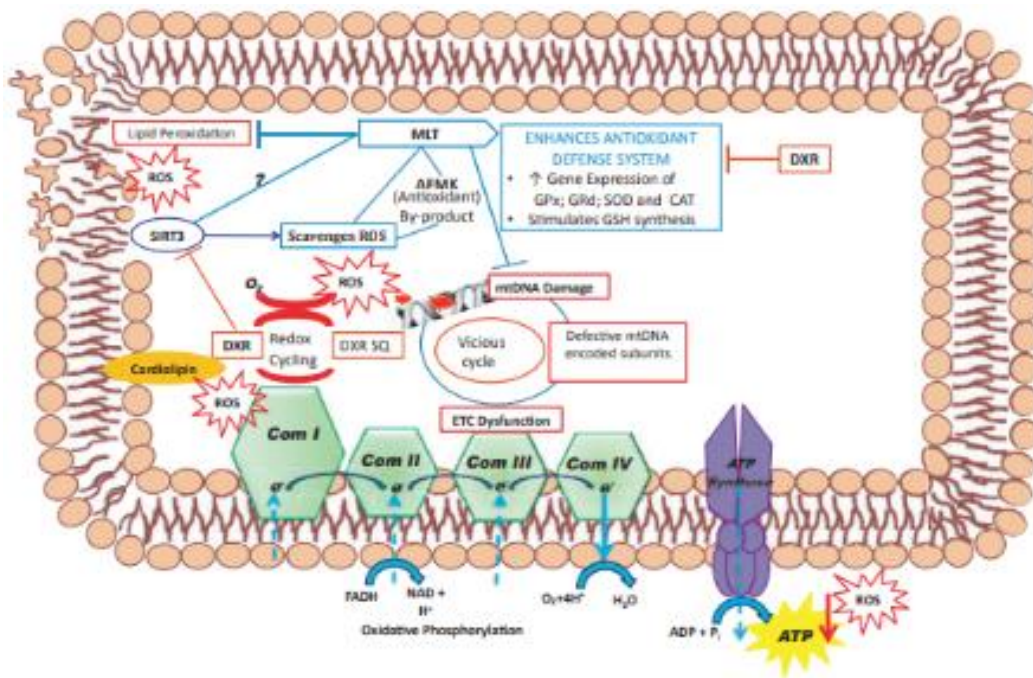


Figura 6. Efeitos da melatonina sobre o dano oxidativo induzido pela Doxorubicina. Verifica-se o mecanismo pelo qual ocorre stress oxidativo, em particular sobre a mitocôndria, e o respetivo efeito antioxidante da melatonina. MLT – melatonina; DXR – doxorubicina; DXR SQ – doxorubicina-semiquinona; ROS – espécies reativas de oxigénio; mtDNA – DNA mitocondrial; ETC – cadeia transportadora de eletrões; SIRT3 – sirtuina 3; [5]

A doxorubicina tem particular afinidade para os complexos I, III e IV da cadeia respiratória. Por outro lado, segundo estudos em ratinhos, a melatonina evidenciou benefícios na atividade dos complexos I e IV de mitocôndrias de tecidos cerebral e hepático, a atividade dos complexos II e III manteve-se inalterada. Previne também o dano bioenergético causado pelo cianeto no complexo IV. Em modelo de ratinho com cardiopatia séptica, o tratamento com melatonina aumentou a fração de ejeção do ventrículo esquerdo e reduziu a taxa de mortalidade. [5] Figurativamente o efeito da melatonina sobre a cadeia respiratória pode ser descrito como um bloqueio ao escape de eletrões. [24]

Durante tratamento com doxorubicina existe inibição da expressão dos receptores ativados por proliferador de peroxissoma tipo γ - PPAR γ - diminuindo o aporte de ácidos gordos, e inibição da expressão do recetor transportador de glicose 4 - GLUT4. Este último efeito revertido por completo pela melatonina. A sua supressão ocorre através de

uma via iniciada por ERO's. Estes que podem ser formados através de duas vias: pelas oxirredutases e por síntese de complexos de ferro, que é retirado da ferritina.

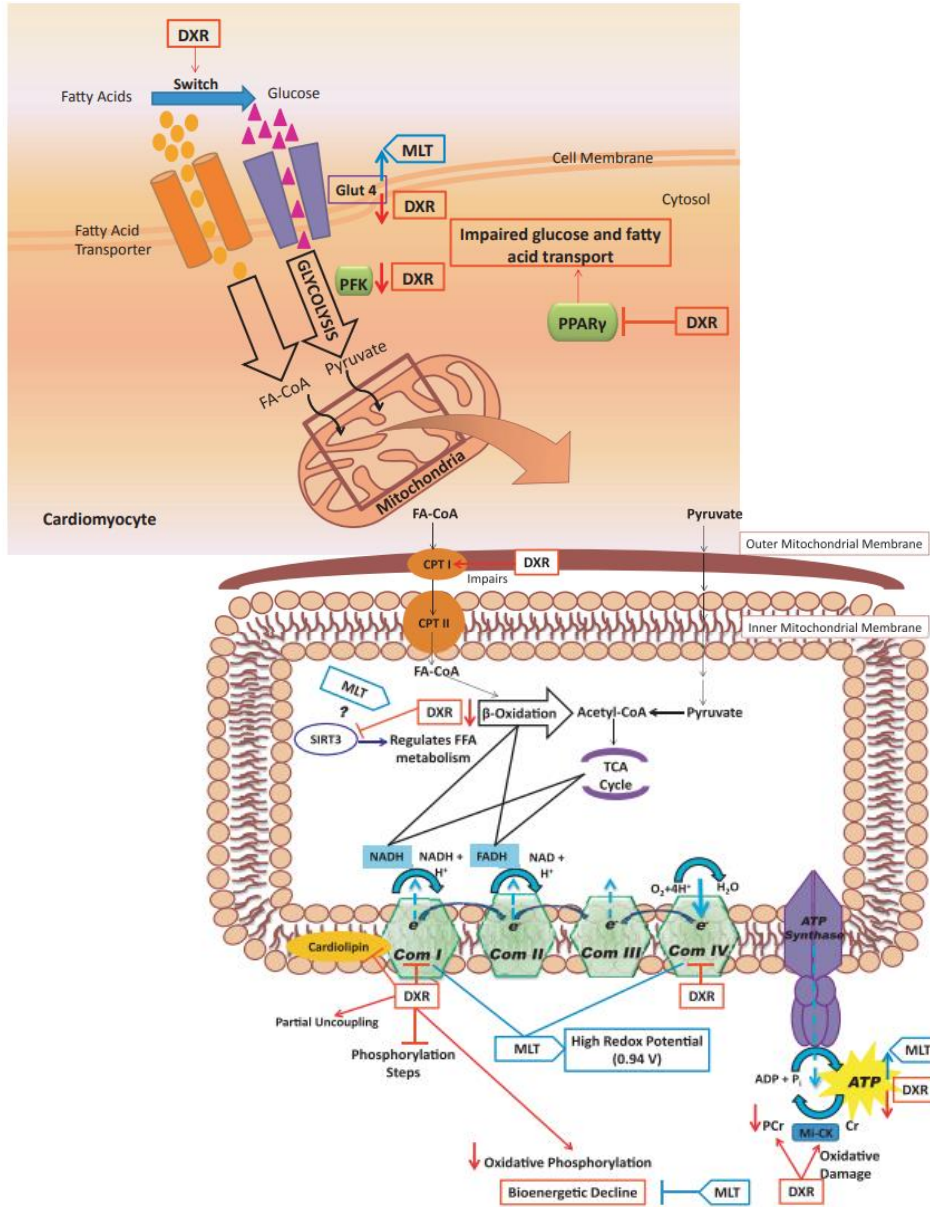


Figura 7. Efeito da melatonina sobre a insuficiência metabólica induzida pela Doxorubicina. Verifica-se o dano sobre a cadeia transportadora de elétrons e consequente déficit de ATP-adenosina trifosfato - bem como alterações sobre o metabolismo glicídico e lipídico. A melatonina parece reverter estas alterações. MLT – melatonina; DXR – doxorubicina; GLUT 4 – transportador de glucose tipo 4; PPAR γ - receptores ativados por proliferadores de peroxissoma tipo gama; PFK – fosfofructocinase; TCA – ácido tricarbóxico; ETC – cadeia transportadora de elétrons. ^[5]

Uma das propriedades da melatonina enquanto antioxidante, e que a distingue dos restantes, é que os seus metabolitos: N1-acetil-N2-formil-5-methoxiquinuramina - AFMK -, N [1]-acetil-5-methoxiquinuramina - AMK - e 3 ciclico-hidroximelatonina - C3-HOM - atuam como *scavengers* de ERO's e espécies reativas de nitrogénio - ERN's; Calcula-se que uma molécula de melatonina possa atuar sobre 10 ERO's ou ERN's.^[25] O primeiro reduz a peroxidação lipídica e o dano oxidativo ao DNA. O segundo é um *scavenger* bastante potente de ERO's e ERN's. O terceiro é o mais eficaz enquanto *scavenger* de radicais *peroxil* e exerce benefícios como protetor do dano oxidativo sobre o citocromo *c*, desse modo inibindo a apoptose que se seguiria à libertação pela mitocôndria deste citocromo oxidado.^[5]

Além dos efeitos diretamente relacionados com os seus metabolitos, há a destacar a sua ação estimulante sobre a expressão génica de vários antioxidantes como a glutationa peroxidase - GPx -, glutationa redutase - GRd -, superóxido dismutase - SOD - e catalase - CAT -, bem como a síntese de novo da glutationa - GSH -, inibição da expressão da sintetase de óxido nítrico - NOS - e também da sintetase de óxido nítrico induzível da mitocôndria - i-mtNOS - nas mitocôndrias dos cardiomiócitos, desse modo com efeitos benéficos sobre a função cardíaca em situações de sépsis.

Em modelos de ratinhos sujeitos a lesões hepáticas de isquemia-reperfusão houve aumento do fluxo de autofagia e este atenuado por tratamento com melatonina, através da inibição da via do alvo mamífero da rapamicina - mTOR.^[5]

Um estudo pretendeu avaliar a extensão deste efeito no aumento da permeabilidade endotelial e apoptose arterial, portanto na aterosclerose. Nesse estudo original verificou-se que o ácido ribonucleico micro - miRNA – miR-29b – expresso em maior quantidade nesta patologia – facilitava a permeabilidade endotelial e a apoptose arterial em ratinhos com dietas hiperlipídicas. Este miRNA inibe a expressão de MT1 e aumenta como suspeito a apoptose, e este efeito é mediado através da inibição de MT1.^[26]

Num outro modelo de ratinhos foi feita uma perfusão de melatonina aquando da oclusão e reabertura de uma artéria coronária. Este tratamento reduziu significativamente as contrações ventriculares prematuras durante a reperfusão. Também se sugere que após um STEMI a variação circadiana dos níveis de VCAM-1, envolvida na patogénese da aterosclerose, está associada à variação no mesmo ciclo dos níveis de melatonina.^[24]

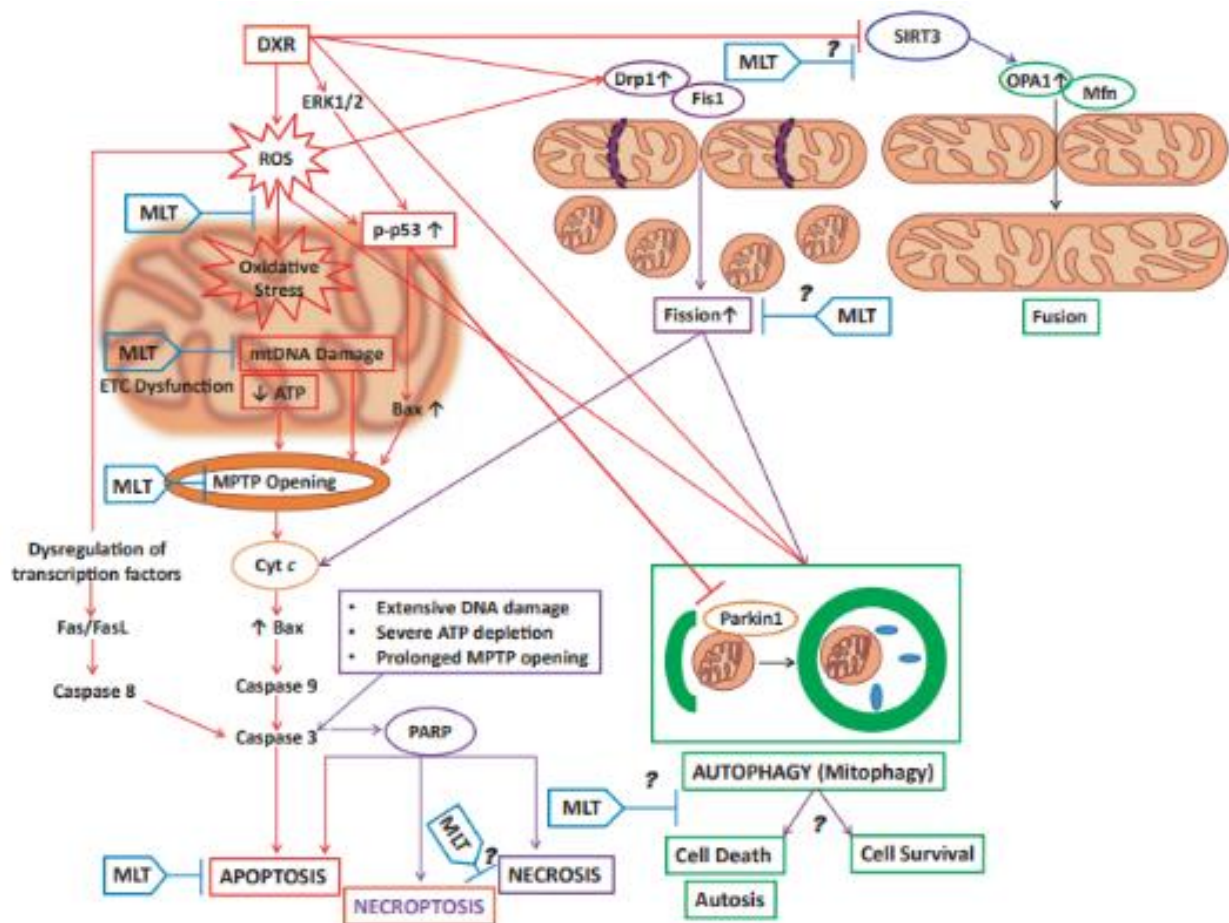


Figura 8. Efeito da Melatonina sobre a morte celular induzida por Doxorubicina. Verifica-se a sua modulação sobre a apoptose, necroptose, necrose e autofagia. MLT – melatonina; Cyt c – citocromo c; SIRT3 – sirtuina 3; DXR – doxorubicina; mtDNA – DNA mitocondrial; MPTP - poro de transição de permeabilidade mitocondrial. [5]

Um estudo procurou avaliar os efeitos da melatonina na redução do dano vascular causado pela angiotensina-II. Em culturas de células endoteliais tratadas com colesterol e angiotensina II aumentou a produção de ERO's e inibiu a fosforilação da sintetase de óxido nítrico endotelial - eNOS. Estes efeitos foram prevenidos pelo pré-tratamento com melatonina. Estes efeitos foram igualmente causados pelo ramelteon – agonista dos recetores de melatonina – pelo que serão estes recetores responsáveis pelos mecanismos propostos. A angiotensina II leva à translocação da subunidade p47phox da fosfato de dinucleótido de adenina e dihidronicotinamida - NADPH - oxidase para a membrana celular, o que é um passo essencial na ativação desta que é a enzima com maior

responsabilidade na produção intracelular de ERO's. Esta translocação é prevenida pela melatonina.^[27]

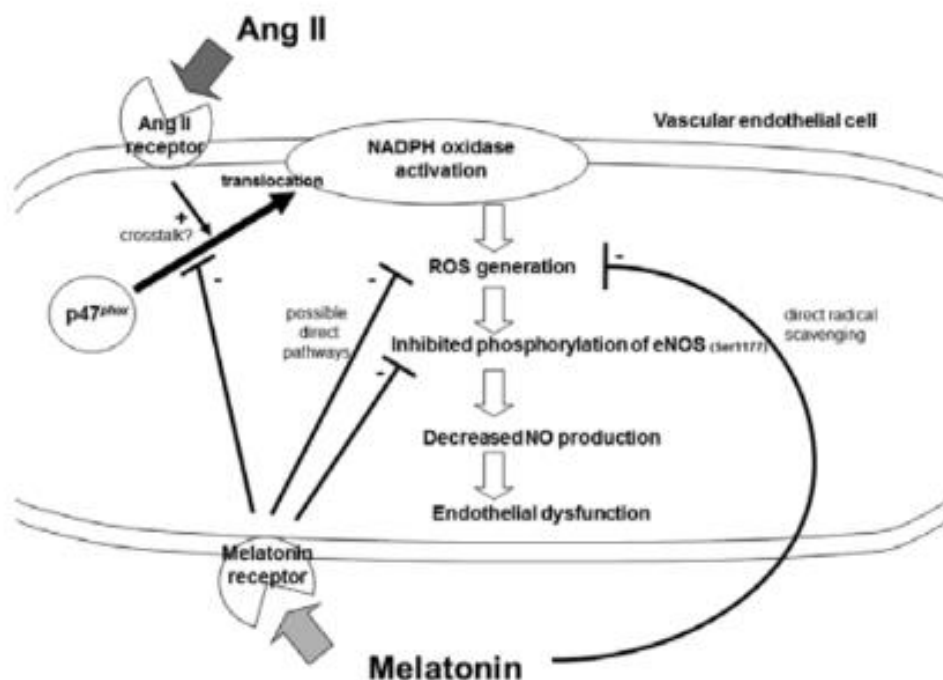


Figura 9. Efeito da melatonina sobre o dano endotelial induzido por angiotensina II. Verifica-se o envolvimento de stress oxidativo no mecanismo fisiopatológico com consequente redução na síntese de NO. Esse mecanismo é inibido pela melatonina.^[27]

Níveis reduzidos de melatonina estão por si associados ao início ou progressão de doença CV.^[27]

Um estudo procurou estabelecer a associação entre a eficácia da doxorubicina no tratamento do cancro de mama e a fase do ciclo circadiano coincidente com a sua administração, em conjunto procurou também explorar o efeito da atividade dos recetores de PPAR γ para o mesmo efeito. Os ligandos deste recetor possuem atividade anti-tumoral em vários cancros e seria estudado o seu potencial cardioprotetor. Este estudo revelou resultados que sugerem maior cardiotoxicidade quando a doxorubicina é associada à presença de maiores concentrações de melatonina endógena, que esta potenciaría o efeito do fármaco sobre os fibroblastos cardíacos. Concluindo que este fármaco deveria ser administrado no meio da manhã, coincidindo com um vale na concentração de melatonina. Este estudo foca, no entanto, o potencial terapêutico de modular a atividade

do recetor PPAR γ com o objetivo de reduzir as doses administradas de doxorubicina. Refere, todavia, que o tamoxifeno se revela mais eficaz no tratamento de cancro de mama quando combinado com melatonina. O mecanismo decorre pela ativação dos recetores MT1 e MT2 que pela via do cAMP estimulam a proteína cinase C - PKC - e fosfolipase C - PLC - que seguem a via do Akt que modula a proliferação e metabolismo celulares. [28]

Um estudo inovador demonstrou uma associação entre a zona de enfarte induzida em ratinhos e os valores de melatonina registados no ventrículo esquerdo e plasma, no espaço de 1 dia, seguido de um aumento de 2,8x nos níveis de mRNA de MT1 após 14 dias; [25]

Em modelos de enfarte induzido por isoproterenol foi feito pré-tratamento com melatonina e verificou-se redução dos níveis de colesterol total no miocárdio e aumento dos fosfolípidos. [25]

As vias do transdutor de sinal e ativador de transcrição 3 - STAT-3 -, RISK e SAFE exercem efeitos cardioprotectores no contexto da lesão isquemia/reperfusão e a sua associação ao efeito da melatonina foi já estabelecido: o tratamento com esta hormona favorecia a ativação daquelas vias. A via SAFE inclusive é ativada antes da lesão, quando é feito o pré-tratamento. [25] E ativação das vias SAFE e RISK dão-se pela inibição do poro de transição de permeabilidade mitocondrial - MPTP - que leva à apoptose via mitocôndria, com a libertação do citocromo c; torna assim estes cardiomiócitos mais resistentes à apoptose. [25]

Verificou-se que em condições de isquemia crónica, induzida em modelos de coração de ratinhos, existia um aumento basal dos níveis de Ca²⁺, um excesso destes após um fenómeno de isquemia-reperfusão, alteração das funções proteicas de ligação ao Ca²⁺ no reticulo sarcoplasmático e redução na expressão das proteínas ATPase de Ca²⁺ do reticulo sarcoplasmático - SERCA. Se tratados com melatonina estes cardiomiócitos mantinham os níveis de Ca²⁺ e não reduziam a expressão de SERCA. [25] Este mesmo estudo verificou que com o tratamento com melatonina ocorria aumento nos valores registados de péptido natriurético auricular - ANP - secretado no átrio esquerdo, no pós-enfarte. [25]

Num estudo em modelos de ratinhos foi verificado que na aorta não se encontra o mRNA de MT2 mas apenas o mRNA de MT1 cujos péptidos expressos se localizam preferencialmente na túnica adventícia, sugerindo um efeito modular dos *vasa vasorum* e parede arterial e não tanto com efeitos de vasoconstrição/vasodilatação, possivelmente

prevenindo inflamação e mantendo a estrutura elástica arterial. Verifica-se que em ratinhos a pinealectomia pode induz HTA que reverte com o tratamento de melatonina. Em humanos também se verifica o efeito hipotensor da melatonina e em indivíduos com valores reduzidos desta hormona existe associação com padrões não *dipping* de PA. Em ratinhos com disfunção da artéria mesentérica, o tratamento com melatonina reverteu a patologia independentemente do efeito na PA. [29]

Num ensaio clinico que recorreu ao uso terapêutico combinado de atorvastatina e melatonina na disfunção endotelial causada por inflamação e stress oxidativo, verificou-se que se obtinha maior expressão de mRNA de eNOS e a melatonina – não a atorvastatina - reduziu a peroxidação lipídica, geração de espécies reativas e libertação de IL-6 que neste ensaio eram induzidas por lipopolissacáridos - LPS. A IL-6 está inclusive associada a disfunção endotelial, apoptose de cardiomiócitos, alterações estruturais e disfunção do ventrículo esquerdo. [30]

Atualmente entende-se a fisiopatologia da aterosclerose como um conjunto complexo de modificações deletérias que incluem dano oxidativo por ERN's, ERO's e hipercolesterolémia. A melatonina inibe a COX-2 e sintetase de óxido nítrico induzível - iNOS - no processo inflamatório. No entanto o efeito da melatonina no tónus vascular depende das condições experimentais, em contexto inflamatório, a melatonina aumenta a expressão de mRNA e eNOS. A atividade de iNOS leva a toxicidade celular via radical NO, sendo inibida pela melatonina. [30]

Um ensaio clinico utilizou linhagens celulares de células endoteliais da veia do cordão umbilical humano - HUVEC's - no sentido de avaliar o efeito da melatonina na prevenção das alterações de permeabilidade induzidas por IL-1 β . Sabe-se que esta IL-1 aumenta a permeabilidade, causa dissolução das junções de aderência e diminui a expressão de proteínas de junção de aderência a que se atribui maior função. Esta ação é antagonizada pela melatonina, que se revela útil na manutenção da integridade do endotélio enquanto barreira. Uma das vias que foram demonstradas como implicadas no efeito é a guanosina trifosfato - GTP – ase Rac que mantem a integridade das junções intercelulares e modula a actina do citoesqueleto, esta via inibida pelo efeito da IL-1 β mas a melatonina reverte esse efeito. Estas propriedades da melatonina parecem mediados pelos recetores de membrana. [31]

Em contexto de sépsis verifica-se que parte do dano causado se deve ao stress oxidativo e seu efeito deletério sobre a mitocôndria, em particular sobre o complexo I e IV da cadeia respiratória. Em modelos de linhagens celulares de sépsis verificou-se que

a melatonina possui atividade inibitória potente sobre a secreção endotelial de IL-6 e IL-8 e inativação da via NF-kB, no protocolo estudado em que a sépsis era causada por LPS. Este fator de transcrição é ativado na sépsis e leva à expressão de vários mediadores inflamatórios. Nesta patologia registou-se a depleção de GSH e a melatonina exerceu efeito ao estimular a sua síntese, além dos seus efeitos anti-inflamatórios e de proteção contra o stress oxidativo que lesa a mitocôndria. [12]

Um ensaio clínico em linhagens celulares estudou o efeito do dano por ERN's sobre as células endoteliais após fenómenos de isquemia-reperfusão. Este processo parece ocorrer através uma cascata de autofagia mediada por lisossomas e da degradação de junções celulares. Verificou-se que a melatonina inibia este dano do endotélio em contexto de lesões por isquemia-reperfusão, tendo até efeito inibitório sobre a via de catepsina-B. [32]

O efeito cardiotoxico da digoxina é mediado por diferentes vias, entre as quais via canal recetor de potencial vanilóide transitório 1 - TRPV1 – que é ativo por ERO's. Outra via é o influxo de Ca^{2+} . Quando os canais mencionados são ativados ocorre aumento no Ca^{2+} intracelular, aumento do stress oxidativo e da apoptose. Estão por sua vez envolvidos na fisiopatologia da aterosclerose, insuficiência cardíaca congestiva e HTA. A melatonina, ao inibir a via do TRPV1, reduz as ERO's, apoptose e o influxo de Ca^{2+} . Assim atua como um bom adjunto da terapêutica com digoxina exercendo um efeito cardioprotetor. [33]

Foi comprovado que a pressão arterial noturna e a o *dipping* – redução da pressão arterial noturna – são melhor preditores de doença CV que os respetivos valores em período diurno. Como se verifica por padrões de hipertensão noturna ou ausência desta redução fisiológica durante o período noturno – *non-dipper*. Como vários ensaios clínicos já demonstraram a melatonina exerce um efeito de redução da PA noturna, possivelmente por um mecanismo que lhe está atribuído: estimula a síntese de NO endotelial, talvez pelo influxo de Ca^{2+} nas células endoteliais. Segundo prévios ensaios clínicos, 2,5 mg e 2 mg de melatonina oral em formulação de libertação controlada reduz a PA sistólica noturna em 6 mmHg. [34]

Um dos mecanismos que distingue a hipertrofia miocárdica adaptativa do *remodeling* é a fibrose. Em modelos de ratinhos com hipertensão o tratamento com melatonina tanto preveniu como reverteu a fibrose instalada no ventrículo esquerdo, embora não reduza a massa ventricular, o que não exclui o seu potencial clínico. Os seus efeitos devem-se a um conjunto de ações cardioprotetoras: inibição do SNS; inibição do

sistema renina-angiotensina-aldosterona - SRAA; reduz a insulinemia aumentando a sensibilidade a insulina; aumento da biodisponibilidade de NO; tanto as catecolaminas como a angiotensina II e a insulina aumentam a fibrose miocárdica por estimularem os fibroblastos. O efeito redutor na PA exercido pela melatonina apesar de benéfico não é suficiente para reduzir o seu efeito sobre a massa ventricular, pelo que não reverte a hipertrofia, mas como é sugerido, a fibrose. Neste sentido poderá reverter a disfunção ventricular esquerda bem como a instabilidade do sistema cardionector. [35]

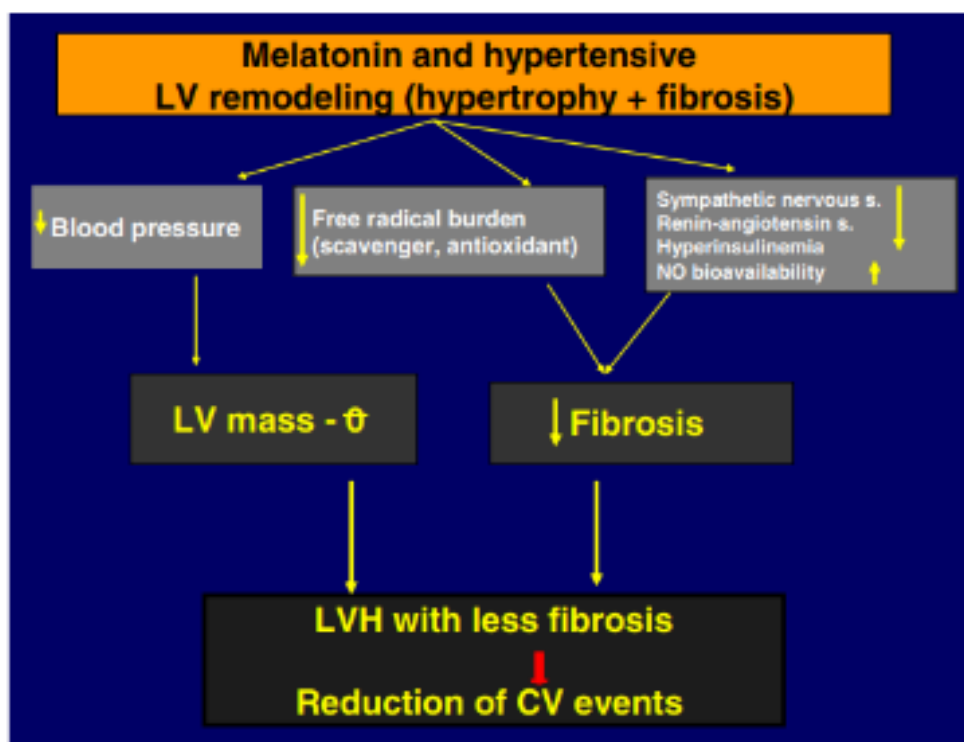


Figura 10. Efeito da melatonina sobre a hipertrofia do Ventrículo Esquerdo. A melatonina reduz a pressão arterial, inibe mecanismos de crescimento como a ativação neuro-hormonal. Não reduz a massa ventricular, no entanto reduz a fibrose. LV – ventrículo esquerdo; LVH – hipertrofia do ventrículo esquerdo. [35]

Reconhece-se atualmente a influência da PA sobre o risco de desenvolver fibrilação auricular. O mecanismo fisiopatológico subjacente poderá envolver a ativação do SRAA que por si leva a hipertrofia do ventrículo esquerdo e aumento do volume do átrio esquerdo, que por si levaria a fibrilação auricular. [36] Sugere-se atualmente uma associação entre padrões atípicos de secreção de melatonina e alterações nos valores de PA, em indivíduos saudáveis. Sendo possível uma associação entre a atividade do SRAA

e dos pinealócitos, que contêm recetores AT1b, com modulação da síntese de melatonina através da atividade da hidroxilase do triptofano. [37]

Foi comprovado que os níveis circulantes de melatonina funcionam como fator de prognóstico em doentes pós-STEMI. Poder-se-á prever que menores níveis circulantes se associam a maior número de eventos CV adversos. Inclusive sugere-se que a medição destes valores aquando da admissão do doente com STEMI se correlaciona com o remodelamento do ventrículo esquerdo registado ao longo do seguimento por ecocardiografia. Um estudo de *cohort* de doentes pós-STEMI verificou uma correlação marcada entre os valores de melatonina e os de disfunção longitudinal global que funciona como método mais sensível de avaliar a disfunção sistólica do ventrículo esquerdo; as fibras longitudinais do subendocárdio são as mais suscetíveis a isquemia e este valor de disfunção longitudinal global parece ser bom preditor da área de enfarte e é esse o valor que mais se correlaciona com os níveis de melatonina, quando em comparação com os valores de fração de ejeção do ventrículo esquerdo. As fibras longitudinais do endocárdio são assim envolvidas numa maior produção de ERO's durante os fenómenos lesivos de isquemia-reperfusão e desse modo beneficiam da ação da melatonina. [38]

O efeito cardioprotetor da melatonina durante fenómenos de isquemia-reperfusão está associada à ativação das vias PKB, proteína cinase ativada por mitogéneos 1/2 - ERK1/2 - e STAT-3; inibe o MPTP com efeito benéfico para a célula; e ainda revela suprimir a mieloperoxidase e reduzir os níveis de malondialdeído, sugerindo desta forma reduzir a peroxidação lipídica. Mas para exercer os seus efeitos cardioprotetores em contexto deste fenómeno é importante que esteja presente aquando desta lesão. Um estudo curioso demonstrou estes efeitos mesmo quando administrada via intraperitoneal 24 horas previamente ao fenómeno de isquemia-reperfusão, com redução da zona de enfarte. O SNS desempenha um papel deletério em contexto de isquemia cardíaca, propiciando arritmias via acúmulo de cAMP, que a melatonina tende a reduzir, atuando como anti-adrenérgico, sugere-se. Defende-se atualmente, vista a evidência, que a melatonina previne as arritmias pós-reperfusão. Quando estas lesões se aplicam ao fígado o tratamento com melatonina evidencia, via aumento do NO, preservação da função e estrutura hepáticas. [25]

Os seus efeitos estendem-se também a outras patologias como o dano oxidativo causado por cádmio, hipertiroidismo e hipertrofia miocárdica. Na ausência de doença o tratamento com melatonina não tem qualquer efeito na função cardíaca, mas verifica-se que na ausência de melatonina, como comprovado em modelos de ratinhos sujeitos a

pinealectomia, o dano por fenómeno de isquemia-reperfusão é maior e verifica-se aumento da colesterolémia e do volume cardíaco, com maior taxa de fibrose, degeneração mixomatosa valvular e espessamento do endocárdio do átrio esquerdo. [25]

Quanto à morte súbita verifica-se que é mais frequente na fase do ciclo circadiano coincidente com os níveis mais reduzidos de melatonina; sabemos que esta hormona, via recetor MT2, modula o tónus vasomotor das artérias coronárias e estimula a fosfodiesterase 5 - PDE5. [25]

Num ensaio clínico foi administrada por via oral 5 mg de melatonina diariamente durante 4 semanas. Houve então redução de cerca de 6 mmHg de PA. Mas quando os doentes estavam a tomar nifedipina e faziam o mesmo tratamento já referido, a PA subia cerca de 6 mmHg. Pensa-se que esta interação derive do efeito da melatonina sobre a sinalização cálcio-calmodulina. [1]

No sentido de explicar o efeito da privação de sono e trabalho por turnos sobre a disfunção endotelial e variabilidade de FC, foi feito um ensaio que evidenciou um nível distinto de ativação do SNA que contribuía para o aumento de risco CV entre os trabalhadores por turnos. Epidemiologicamente a associação entre risco CV e o trabalho por turnos estava já estabelecida, mas com este estudo revela-se que existe maior disfunção endotelial, sugerindo maior tónus simpático, avaliado pela resposta vasodilatadora. Verificou-se ainda que nos trabalhadores por turnos registam-se valores inferiores de variabilidade de FC e maior rácio de baixas frequências/altas frequências ou seja evidencia maior tónus simpático ou menor parassimpático, ambos associados a maior risco CV. Quanto ao efeito da privação de sono na função endotelial avaliada nos mesmos parâmetros, não se encontra associação significativa. [11]

A administração oral de melatonina durante a tarde tem efeitos hipotensores, redutores da noradrenalina circulantes e também do índice de pulsabilidade, medido na carótida interna. Quando administrada durante a noite registava-se nos participantes menores valores de PA sistólica e PA diastólica noturnos, sem evidenciar efeito sobre a FC, outro estudo conclui semelhantes dados, mas verifica que a PA e FC diurnas não se alteraram – protocolo de administração noturna. Sugere-se que os mecanismos que explicam a ação da melatonina exógena sejam distintos mediante a administração seja noturna ou diurna. [4]

Diferentes estudos verificaram a influência do ciclo circadiano da melatonina sobre o do coração, avaliado por valores como a FC e sua variabilidade, entre outros. Um estudo registou uma associação linear entre o período de trabalho por turnos e o risco de

enfarte isquêmico, com 4% de risco acrescido a cada 5 anos de trabalho. Verifica-se que estes trabalhadores apresentam maior probabilidade de desenvolverem síndrome metabólico e certos tipos de cancro. [4]

Em estudos laboratoriais verificou-se que a discordância circadiana que ocorre por exemplo com o trabalho por turnos leva por si e como fator independente, de outros como a situação socioeconômica ou variáveis comportamentais, a alterações cardiometabólicas que aumentam o risco de obesidade, diabetes e doença CV. [4]

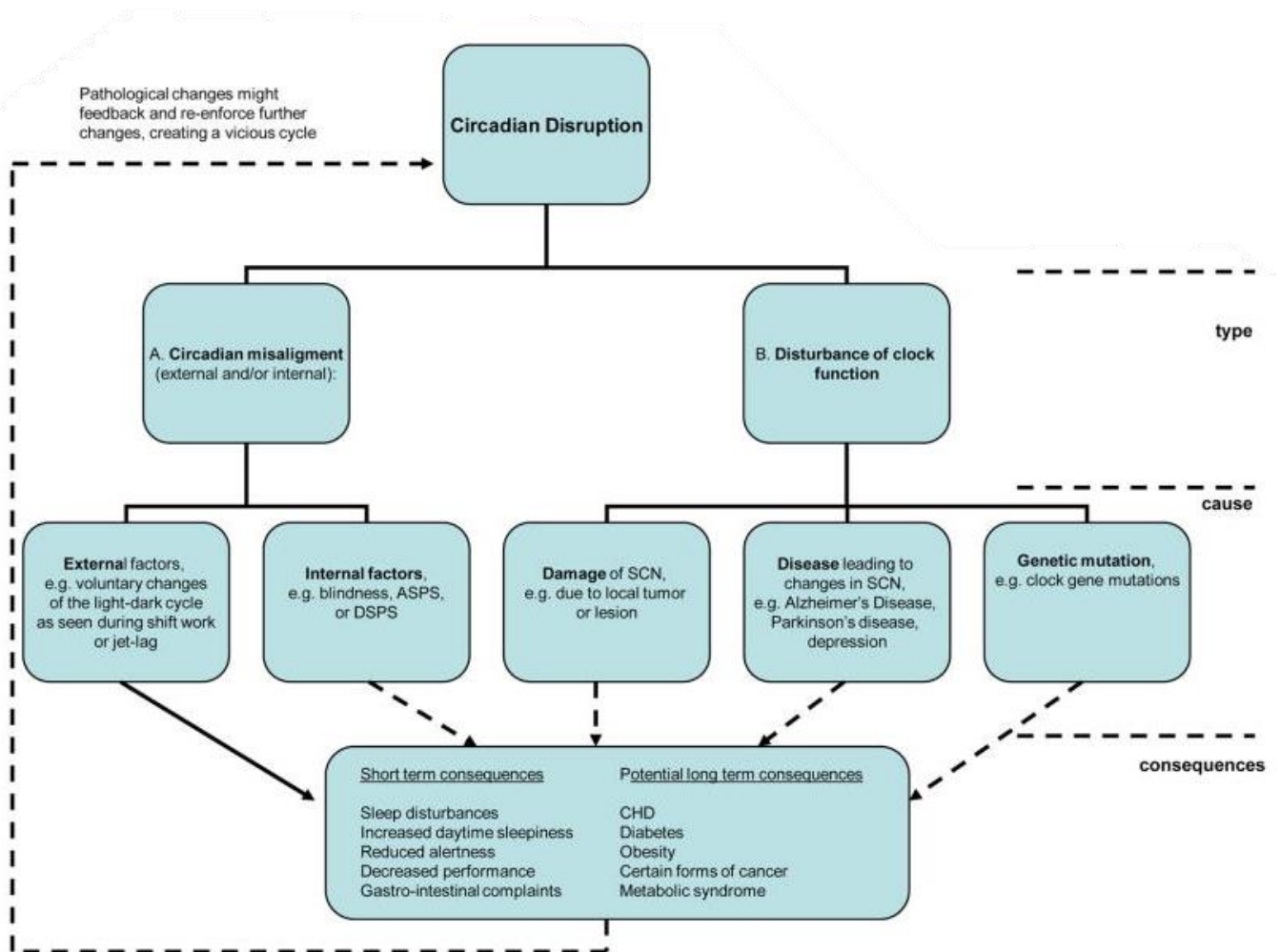


Figura 11. Diferentes tipos de disrupção circadiana, causas e consequências. [4]

No sentido de avaliar a influência dos níveis de melatonina na secreção endotelial de inibidor do fator tecidual livre - fTFPI -, foi feito um estudo que contemplava uma associação já verificada entre o ritmo circadiano de fTFPI e melatonina. Tendo em conta a variação circadiana nos níveis séricos de diversos fatores de coagulação ou inibidores de coagulação, p.e. FVIIa, FVIII e inibidor do fator tecidual - TPFI -, poder-se-ia estudar assim o papel da melatonina – enquanto regulador de sistemas circadianos – na regulação

da hemostase: verifica-se que quando as concentrações de melatonina estão no máximo, as de fTFPI atingem o seu mínimo, e vice-versa.

Este estudo, feito em linhagens celulares, registou com o tratamento com melatonina um aumento na secreção endotelial de fTFPI sem, no entanto, alterar a transcrição do gene de TFPI. Este efeito foi dose-dependente. Discutiu-se a sua possível correlação com sistemas *in vivo*. Quanto ao fato dos registos indicarem uma correlação positiva ao invés de negativa, como se verificara anteriormente, colocou-se a hipótese de um *delay* fisiológico de 4 a 6 horas entre a secreção de melatonina e o seu efeito estimulatório sobre a síntese de fTFPI. Provando-se esta associação *in vivo* poder-se-ia constatar um papel da melatonina no tratamento e profilaxia de eventos tromboembólicos.

[39]

Benefício da Melatonina em outras áreas

Obstetrícia

No sentido de avaliar a resposta vascular antioxidante da melatonina foi feito um estudo original que testou a sua eficácia no tratamento adjuvante da pré-eclâmpsia. Esta síndrome mantém-se como causa predominante de morbidade e mortalidade materna e perinatal e a sua terapêutica fundamenta-se essencialmente na utilização de anti-hipertensores que não atuam na etiologia vascular da pré-eclâmpsia. [40] É ainda conhecido que neste síndrome há uma redução nos valores séricos de melatonina e dos recetores placentários desta hormona provavelmente devido a uma menor síntese de melatonina por parte da placenta.

Foi já comprovado o efeito protetor da melatonina na lesão de isquemia-reperfusão da placenta e este mecanismo encontra-se explicado pela capacidade desta hormona remover radicais livres e ainda regular enzimas antioxidantes como a hemo-oxigenase-1 - HO-1 -, a SOD2 e a NADPH:quinona oxirredutase-1. Este efeito é mantido através da ativação do NFE2L2. Consequentemente há uma redução de fatores envolvidos na disfunção endotelial materna. Há ainda evidência do efeito mitigante da melatonina no dano vascular induzido por dieta hiperlipídica e pela angiotensina II.

Estes efeitos motivaram o ensaio clínico e *in vitro* da sua aplicabilidade como tratamento adjuvante na pré-eclâmpsia. O estudo *in vitro* cultivou amostras de cotilédones

placentários de parturientes saudáveis e com pré-eclâmpsia, um grupo seria induzindo em stress oxidativo através de xantina/xantina oxidase sendo que este ramo do estudo seria dividido em grupos tratados ou não com melatonina, esta indução mimetiza o stress oxidativo na placenta que decorre da pré-eclâmpsia. Este mecanismo leva à expressão de 8-isoprostano, que serve como marcador de stress oxidativo e os resultados deste estudo revelam que a co-cultura das amostras com melatonina anulou a expressão aumentada de 8-isoprostano provocado pelo stress oxidativo induzido e ainda aumentou os níveis de marcadores antioxidantes, no entanto não evitou a expressão aumentada de fatores antiangiogénicos. Outro ramo do estudo dedicou-se ao isolamento de células endoteliais do cordão umbilical de parturientes saudáveis sendo depois tratadas com um meio contendo fator de necrose tumoral α - TNF- α - recombinante sendo um grupo tratado com melatonina vs. controlo. Neste ramo do estudo a melatonina foi responsável pela atenuação do efeito do TNF- α na expressão de VCAM-1 e mitigou o restante efeito de disfunção endotelial associado ao TNF- α , mas não modificou outros fatores de ativação ou disfunção endotelial.

O ensaio clínico, do estudo em questão, reuniu 20 mulheres com pré-eclâmpsia precoce (antes das 37 semanas de gestação) e a quem foram administradas formulações orais comerciais de melatonina 10mg de libertação sustentada (controlada) mas que continha também 10mg de piridoxina. Cada comprimido era administrado 3 vezes por dia desde a admissão da gestante até ao dia de parto. Importa ainda referir que estas doses não provocaram nenhum efeito adverso materno inclusive sonolência. O objetivo primário deste ensaio seria avaliar a eficácia da melatonina no prolongamento da gravidez desde o diagnóstico da patologia em questão. Para determinar a resposta vascular materna foram feitos exames por *Doppler* às artérias uterinas e braquial direita no pré-parto. Os efeitos da melatonina neste ramo do estudo exibem a sua propriedade terapêutica ao prolongar o período desde o diagnóstico de pré-eclâmpsia até ao parto, em média em 6 dias. Não variou os valores médios de pressão arterial, mas em comparação com controlos históricos necessitaram de menos anti-hipertensores. Este estudo conclui que a melatonina tem o potencial de reduzir o dano oxidativo no endotélio em contexto de pré-eclâmpsia e assim poderá merecer o papel de terapia adjuvante. ^[40]

A restrição de crescimento intra-uterino é fator de risco para o desenvolvimento posterior de HTA e perturbações do sono. Neste contexto a melatonina atua aumentando o fluxo sanguíneo fetal prevenindo o dano neuronal e cardíaco. É referido que exerce a sua ação antioxidante através da expressão de enzimas antioxidantes como a superóxido

dismutase, catálase, peroxidase e redutase do glutatião. Nos recém-nascidos pré-termo a secreção rítmica de melatonina só se estabelece 3 semanas mais tarde em comparação com recém-nascidos de termo, sabendo-se que esta hormona tem papel no neurodesenvolvimento. Relativamente ao perfil de segurança da melatonina durante a gestação, um estudo piloto defende que a administração oral de melatonina a mães de fetos com restrição de crescimento intra-uterino não está associada a qualquer evento adverso a curto prazo. [41]

A propriedade anfipática da molécula de melatonina permite-lhe um rápido transporte através da placenta, transmitindo a informação fotoperiódica ao feto, pelo que o seu ciclo circadiano é regulado pelo materno. Atualmente defende-se a posição de que a melatonina sensibiliza o miométrio para a ação da oxitocina, tendo um papel no parto. Está atualmente documentado que partos durante a noite são mais curtos e partos durante o dia têm maior taxa de intervenção cirúrgica e de morte perinatal. [42]

Psiquiatria

É sugerido que a melatonina esteja envolvida na fisiopatologia da Perturbação Afetiva Sazonal. Durante a época sazonal com menor fotoperíodo a maior síntese de melatonina poderá reduzir os níveis de triptofano a um nível que afete a sua captação pela BHE e dessa forma sirva de base para a síntese de serotonina, outra hormona que partilha com a melatonina este aminoácido comum em ambas as sínteses. Nesse sentido estas épocas estariam associadas a menor síntese de serotonina no cérebro. Outro efeito da melatonina está associado à regulação da secreção das células tirotróficas da *pars tuberalis*, na hipófise. E a melatonina exerce parte do seu efeito inibindo a secreção de hormona estimuladora da tiroide - TSH -, induzindo um estado hipotiroideu central. Além disso a melatonina tem efeito na redução da expressão de neuromedina U na *pars tuberalis* com efeito de aumento de apetite. Todos estes efeitos estão diretamente correlacionados com o quadro sintomático descrito na Perturbação Afetiva Sazonal. [43]

Os primeiros sinais de desenvolvimento de um ciclo de sono ocorrem nas primeiras 10 semanas de gestação mediante 3 padrões: sono quieto que corresponderá mais tarde ao sono sem movimentos rápidos dos olhos - NREM -, sono ativo que corresponderá mais tarde ao sono com movimentos rápidos dos olhos - REM - e sono indeterminado: sinal de imaturidade por ocorrerem sinais de ambos os padrões anteriores. Até às 32 semanas este ciclo já é distinto e desde então até às 40 semanas aumenta o tempo de sono quieto, diminui o sono indeterminado e mantém-se constante o sono ativo.

Assim quando nasce o bebê tem períodos semelhantes de sono ativo e quieto. Entre as 32 e as 40 semanas o desenvolvimento dos bebês pré-termo é semelhante ao que teriam *in utero*.^[41]

Neurologia

O papel antioxidante da melatonina foi proposto enquanto potencial reparador da lesão cerebral hipoglicêmica. O mecanismo que está na sua base ainda é parcialmente desconhecido, mas inclui disfunção das junções intercelulares que constituem a barreira hematoencefálica. A função da BHE é regulada pelo metabolismo do endotélio que a compõe. As células endoteliais expressam um inibidor de glicólise que promove a via metabólica das pentoses fosfato e exerce este efeito por ativar a fosfofructocinase-2 que hidrolisa fructoses fosfatadas. Este inibidor estimula ainda a cadeia respiratória mitocondrial, reduz o stress oxidativo e aumenta o NADPH, protegendo a função cerebral, tendo um possível efeito neuroprotetor durante estados de hipoglicemia com dano consequente das junções intercelulares do endotélio.^[44] Assim foi analisado o efeito da melatonina perante estas lesões em modelos de células endoteliais humanas da microvasculatura cerebral. Nesse estudo foi identificado um efeito anteriormente desconhecido da melatonina – inibição da autofagia das células do endotélio durante estados de hipoglicemia, protegendo assim a BHE. Este efeito é exercido através da via do inibidor de glicólise mencionado que estaria disfuncional durante hipoglicemia. Conclui assim que a estimulação desta via tem um efeito neuroprotetor, favorecendo por si a via das pentoses fosfato. Reduz o stress metabólico e a disfunção nas junções intercelulares com efeito substancial na manutenção da BHE.

A microvasculatura cerebral é também lesada por ERN's durante isquemia ou doenças neurodegenerativas e este dano é inibido pela melatonina, também através da estabilização da BHE.^[44]

Foi também avaliado o efeito anti-inflamatório da melatonina na aterosclerose em modelos de ratinhos, evidenciando redução da expressão de endotelina-1 - ET-1 -, IL-6 e MMP-2 e MMP-9 na aorta, redução também de TNF- α e agrupamento de diferenciação - CD - 68 na gordura visceral e aumenta a expressão de adiponectina e do recetor de adiponectina 1 no tecido adiposo perivascular em ratinhos com mutações para déficit de leptina.^[45] Quanto ao efeito exercido no recetor ET-1 é sugerido que a melatonina inibe a sua síntese em contexto de pós-isquemia através da inibição da via enzima conversora de endotelina-1 - ECE-1 – que converte endotelina na sua forma ativa. Esta substância é

um potente vasoconstritor que tem a sua expressão aumentada em contexto isquêmico aumentando o dano na BHE e agrava as consequências de AVC, pelo que é sugerido um papel adjuvante para a melatonina no seu tratamento.

A doença de Alzheimer e a Diabetes *Mellitus* têm fatores de risco em comum como resistência à insulina, distúrbios do sono, disrupção da BHE e alterações da homeostase de glicose. Atribui-se uma classificação à Doença de Alzheimer associada a resistência à insulina no cérebro, designando-se “Diabetes *Mellitus* 3”. O liquor em doentes com doença de Alzheimer tem concentrações de melatonina inferiores aos da população saudável. [46] Esta hormona reduz por si a acumulação do β -amiloide, a hiperfosforilação da proteína tau, a disfunção sináptica através da via Notch1/Hes1 no hipocampo, a permeabilidade da BHE, a resistência à insulina e regula a homeostasia de glicose.[46] A disfunção nos recetores de insulina está associada à inibição da via fosfoinositídeo 3-cinase - PI-3K - /Akt que estimula a hiperfosforilação tau e a acumulação do β -amiloide. A melatonina neste sentido restitui a função do recetor de insulina e conseqüentemente aumenta a atividade da via PI-3 K/Akt o que constitui um bloqueio à hiperfosforilação tau e a acumulação do β -amiloide. Outro estudo *in vivo* sugere ainda que a melatonina inibe a síntese de enzimas do hipocampo envolvidas na síntese do β -amiloide e inibe a síntese de aniões superóxido na microglia em situações de acumulação do β -amiloide. [46]

A hiperglicemia aumenta também a permeabilidade da BHE perturbando as funções cognitivas e facilitando o desenvolvimento da doença de Alzheimer, possivelmente através da produção exagerada de ERO's. A melatonina tem ação na redução de inflamação do endotélio na microvasculatura cerebral, protege a função do endotélio pela via da NADPH oxidase-2, inibe a síntese da MMP- 9 e estabiliza as junções intercelulares. Assim poderá constituir-se como agente terapêutico adjunto na doença de Alzheimer associada a diabetes que tem por si disfunção na BHE. [46]

No sentido de aproveitar os efeitos pleiotrópicos da melatonina produziram-se ainda mais estudos que comprovam o seu efeito antioxidante. Num artigo de revisão em particular foi analisado o seu efeito na cascata de sinalização associada a isquemia cerebral. A evidência suporta a sua função antioxidante neste contexto e a longo prazo também evidencia benefícios nos défices neuronais e comportamentais associados à isquemia, preservando a BHE, induzindo neurogênese e transmissão sináptica. [6]

Em modelos de ratinhos ficou demonstrado que quando era induzida isquemia cerebral crónica, a quantidade de neurónios perdidos no hipocampo – células CA 1 e CA

4 – era maior quando a essa lesão era adicionada a variável de ausência de glândula pineal por excisão cirúrgica, além de evidenciar maior quantidade de proteína fibrilar ácida da glia - GFAP. Esta proteína é um marcador de fibrose cerebral e em modelos de ratinhos pós-isquemia cerebral aos quais foi administrada melatonina registou-se uma redução nos valores de GFAP. Neste estudo o volume da zona de enfarte e o dano ao DNA era maior nos ratinhos sem glândula pineal na fase aguda após-enfarte quando comparado com os que a mantiveram, sendo que este dano era parcialmente anulado quando era administrada melatonina. [6]

Sendo o sistema nervoso central particularmente sensível ao dano oxidativo e também um propenso produtor de ERO's sugere-se que a base do mecanismo neuroprotetor da melatonina esteja assim relacionado. Como tal esta hormona atua como *scavenger* das ERO's e ERN's através de mecanismos não mediados por recetor ou através da síntese de enzimas antioxidantes, inibindo a apoptose neuronal por reduzir a expressão da via Nox 2 e Nox 4 que é uma fonte produtora de ERO's. Outra via através da qual a melatonina exerce este efeito é a da síntese de GSH que está tipicamente inibida durante períodos de isquemia aguda ou crónica, mas demonstra um aumento dos seus níveis quando é administrada melatonina. Pensa-se que este efeito antioxidante da melatonina possa pelo menos em parte estar relacionado com a ativação do seu recetor MT3, [6] associado à enzima redutase de quinona II. [1]

Num estudo foi feita a *up-regulation* do recetor MT2 resultando no aumento da neurogénese endógena, a manutenção da BHE e a redução na ativação de astrócitos e microglia, tudo isto em contexto de isquemia. Neste contexto tem ainda função de bloquear a via apoptótica que se segue a períodos de isquemia e através da via Bcl-2 estimulada por melatonina e que contraria a via da caspase 3 exercendo um efeito neuroprotetor. Enquanto ativador da via PI3K/Akt a melatonina funciona como sinal de sobrevivência celular e tem ainda efeitos protetores que contrariam o efeito da MMP-9 cuja síntese é reduzida, assim reduz a inflamação e disrupção da BHE em modelos de ratinhos. [6]

É de referir ainda o efeito da via regulador de informação silenciosa 1 - sirt1 – que é estimulante perante fenómenos de isquemia e exerce o seu efeito reduzindo o dano cerebral. A melatonina ativa esta via e consequentemente reduz o dano oxidativo mitocondrial através da via p-53 e NF- κ B. Tem ainda o efeito de aliviar o dano excitotóxico do glutamato através da inibição do influxo de Ca²⁺ pelos recetores N-metil D-Aspartato - NMDA -, sendo este efeito não dependente dos seus recetores. Um

mediador da excitotoxicidade do glutamato é a atividade da NOS, que a melatonina inibe, além disso reduz a ativação da microglia. [6]

Como modelo de asfixia neonatal foram usados ratinhos. Às mães foi administrada continuamente melatonina e nos córtices dos ratinhos analisados, a quem tinha sido exposta por via materna esta hormona, registou-se uma significativa redução na infiltração de microglia e de macrófagos. [6]

Em modelos de porco foi estudada a potencial aplicação da melatonina enquanto terapêutica adjuvante na encefalopatia hipóxico-isquémica e dado que atualmente a terapêutica indicada é a hipotermia induzida e precoce foi avaliada a diferença induzida pela administração de melatonina. O resultado foi superior e evidenciou o papel neuroprotetor da melatonina enquanto adjuvante. Um dos seus efeitos defendidos é de que tem propriedade de ser quelante de metais como o ferro, reduzindo assim o dano oxidativo que este causa na BHE. Foi nesse sentido feito um ensaio clínico que administrou melatonina a bebés com EHI em que esta hormona exerceu os seus efeitos neuroprotetores por reduzir os níveis séricos de MDA, enquanto marcador de dano cerebral, e de nitratos/nitritos, segundo os resultados o dano isquémico foi significativamente inferior embora os valores de MDA e NO se tenham mantido elevados. A longo prazo os ratinhos com lesões por encefalopatia hipóxico-isquémica tratados com melatonina apresentaram melhores performances em testes de comportamento. Num estudo realizado em modelos de ratinho aos quais foram induzidos isquemia cerebral, foi avaliado o efeito a 28 dias da melatonina enquanto terapia adjuvante, contra controlo. Os resultados evidenciaram melhores parâmetros sensoriomotores comportamentais e menos défices neuronais, comparados com o controlo. [6]

Num estudo foi demonstrado que a ativação do recetor MT2 ativa vias de neurogénese e proliferação celular. [6]

Para mobilizar o potencial antioxidante da melatonina no tratamento da doença de Alzheimer um estudo procurou potenciar o efeito do donepezil que é um inibidor da acetilcolinesterase - AChE - com fusão química a melatonina. Um dos compostos resultantes evidenciou capacidade de quelante de metais e reduzia a apoptose celular mediada por dano oxidativo. [47]

Lesões traumáticas cerebrais estão associadas a níveis reduzidos de melatonina, esta hormona que se sugere ter efeito antiapoptótico e inibitório do influxo de Ca^{2+} em modelo de ratinho de lesão traumática cerebral. [22]

A investigação animal sugere que o ciclo circadiano é regulado pela estrutura interna do SCN: um transplante de tecidos fetais do SCN alojado num ratinho velho levou à restauração de parte do seu ciclo circadiano, como o ritmo de temperatura corporal, atividade locomotora, nutrição e secreção de hormona libertadora de corticotrofina - CRH – hipotalâmica. [48]

Apesar do predomínio aparente de avanços de fase, com o envelhecimento, sugerindo um predomínio de ciclos ultradianos, parece que não existe transição para nenhuma fase definitiva. [48]

Como ocorre perda de interação interneuronal, diferentes picos de atividade podem surgir e assim causar padrões bimodais de atividade elétrica, uma vez que cada núcleo estaria a funcionar independentemente. Verifica-se que a variação de temperatura corporal mantém o seu ritmo circadiano apesar das perdas de atividade rítmica do SCN uma vez que requer uma menor amplitude de sinal e é regulada mais diretamente pelo SCN, pelo que é sustida mais tempo. [48]

Um estudo avaliou isoladamente o efeito protetor da melatonina sobre a BHE. Nesse sentido estudaram o seu efeito sobre proteínas do grupo *zonula occludens-1* - ZO-1 - envolvidas na função de junção intercelular, ligadas a proteínas do citoesqueleto. A IL-1 β e a metaloproteinase-9 - MMP-9 — estão envolvidas no processo inflamatório que induz disfunção à BHE e as suas ações foram inibidas pela administração de melatonina, corroborando este papel. É de referir que a melatonina se pode ligar diretamente ao centro catalítico da MMP-9 inibindo a sua ação. Quanto à intervenção na via da IL-1 β a melatonina bloqueia o seu efeito de disfunção da BHE, esta citocina está aumentada em caso de dano cerebral e aumenta a permeabilidade da barreira. [49]

Perante um episódio de isquemia cerebral a ação das MMP's determina a extensão da lesão tecidual, atua no remodelamento da matriz extracelular e contribui para a neurodegeneração. A sua inibição reduz a extensão do dano neuronal. A melatonina tem efeito inibitório da MMP-9 durante episódios de isquemia cerebral global transitória, por ligação por pontes de hidrogénio ao seu centro ativo, de forma menos eficaz que outros inibidores como o piroxicam, um anti-inflamatório não-esteróide. Verificou-se também que possui ação inibitória por estabelecer pontes de hidrogénio no centro ativo da MMP-2, de uma forma menos eficaz que outro inibidor - piroxicam. Exerce assim efeito neuroprotetor perante fenómenos de isquemia. [50]

A melatonina foi avaliada quanto ao seu potencial de ser substrato para a síntese de compostos híbridos de curcumina -do rizoma *Curcuma longa* - e melatonina, com

benefícios neuroprotetores na doença de Alzheimer. Um dos compostos sintetizados exerceu efeito inibitório sobre a síntese do β -amiloide mas não sobre a sua agregação. Exerceu ainda efeitos antioxidantes significativos. Em modelos de ratinhos transgênicos com doença de Alzheimer a melatonina provou-se benéfica na função cognitiva e reduziu a deposição de β -amiloide e a neuroinflamação. Sugere-se inclusive que o dano oxidativo causado pela deposição de amiloide é o motor da morte neuronal. Os resultados de um estudo original defendem que os oligômeros de β -amiloide interagem com a membrana mitocondrial e produzem ERO's mitocondriais que levam à morte celular. Esta interação foi inibida pelo composto híbrido de melatonina e curcumina, composto este que teria capacidade de penetração da BHE. [51]

Outros híbridos que usam melatonina como substrato foram sintetizados, evidenciando propriedades antioxidantes, colinérgicas e neuroprotetoras, promovendo maturação de células estaminais neuronais e inibem a AChE. A ação da melatonina envolve a inibição da hiperfosforilação do neurofilamento na doença de Alzheimer e protege dos efeitos do amiloide. Em ratinhos adultos estimulou a proliferação e diferenciação de neurónios hipocâmpicos. [52]

Em modelos de ratinhos modificados para senescência acelerada e tratados com melatonina, as alterações cardíacas dependentes do processo de envelhecimento foram prevenidas. [24] Nestes modelos o tratamento com melatonina melhorou a função pancreática, reduzindo a inflamação, beneficiando o metabolismo de glicose, os mesmos resultados foram verificados no fígado. Ocorreu redução na expressão de mRNA de TNF- α , IL-1 β , HO (HO-1 and HO-2), iNOS, proteína quimiotática de monócitos-1, NF κ B1, NF κ B2 e proteína ativadora de NF κ B nos ratinhos velhos. As alterações cardíacas observadas com a idade foram também revertidas no tratamento com melatonina. [24] Nesta área a própria melatonina revela atividade estimulante da expressão do SIRT1, reduzindo a inflamação e a via apoptótica associada a p53. [25]

Um ensaio em ratinhos analisou o efeito do tratamento com melatonina após AVC induzido. Este estudo em particular focou o seu efeito sobre o metabolismo da L-arginina. Além das suas propriedades neuroprotetoras por inibir a atividade de NOS – fonte de dano oxidativo -, ação anti-inflamatória e antioxidante a melatonina também aumentou a expressão da arginase II. O seu efeito revela redução da zona de AVC e recuperação da atividade enzimática mitocondrial. Depois do AVC parte da morte celular ocorre por inflamação que se mantém ativa após a reperfusão, este processo é inibido pela melatonina. Um estudo revelou que após a oclusão permanente da artéria cerebral media,

o pré-tratamento com melatonina inibiu a iNOS e sintetase de óxido nítrico neuronal - nNOS - que são deletérias em fenómenos de isquemia-reperfusão e aumentou a expressão de eNOS que tem função vasodilatadora, benéfica em fenómenos de isquemia-reperfusão. O efeito neuroprotetor da melatonina neste contexto inclui de aumentar a atividade da arginase e modular também a atividade da COX, essencial no processo inflamatório, inclusive diminui a expressão de COX-II neste contexto, via inibição da iNOS, NF-kB ou por inibição direta. Sugere-se que a arginase em contexto de isquemia-reperfusão é benéfica por consumir o substrato – arginina – sobre o qual atuaria a iNOS e nNOS.^[53]

Na fisiopatologia da doença de Alzheimer estão envolvidos, além da hiperfosforilação da proteína tau ou deposição do β -amiloide, lesões causadas por dano oxidativo com origem em ERO's e ERN's. A sua génese decorre de varias fontes como ferro acumulado que se verifica aumentado nas neurofibrilas intracelulares associadas à doença de Alzheimer e também nos depósitos de amiloide; decorre também da formação de radicais *peptidil* pelo amiloide depositado, que atua como quelante de metais e gera a peroxidação lipídica de membranas celulares e gera dano oxidativo no DNA; Este dano é responsável pelo declínio na função cerebral observado com a idade. Por si aumenta também os níveis de proteína precursora do amiloide - APP – ou seja cria-se um feedback positivo entre a oxidação produzida pelas placas de amiloide e os níveis de APP. A oxidase de NADPH da microglia ativada pelo amiloide produz, por sua vez, grandes quantidades de espécies reativas. Os astrócitos produzem NO que reage com o radical superóxido gerado nas reações anteriores e forma peroxinitrito. Assim culmina a neurotoxicidade que se estende ao DNA mitocondrial que quando lesado leva a que este organelo diminua a eficácia de síntese de adenosina trifosfato - ATP - e aumente a síntese de ERO's. Verifica-se um déficit de enzimas essenciais ao metabolismo mitocondrial em doente com doença de Alzheimer, justificando a disfunção da cadeia respiratória. Nestes tecidos lesados verifica-se uma maior sensibilidade ao dano de ERO's, sugerindo a sua relativa deficiência no contra-efeito de antioxidantes ou também um aumento na taxa de espécies oxidantes. Aqui atua a melatonina pelo efeito estabilizador da mitocôndria, anti-amiloidogénico e anti-inflamatório. Em ratinhos levou à redução na deposição de β -amiloide 40 e 42 no córtex e noutro estudo sugere-se que levaria, também em ratinhos, a prevenir a deposição de β -amiloide que seria esperada ao longo do tempo. Um dos problemas apontados na extrapolação de conclusões de modelos animais para humanos é a impossibilidade de converter as doses aplicadas em modelos animais para doses passíveis de administração em humanos, além de que nos estudos em humanos a doença

é muito avançada, o que não se verifica nos animais; outro impedimento é o pouco conhecimento sobre parâmetros como a absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade das substâncias antioxidantes analisadas nos estudos. [54]

Um ensaio em neonatos com distrofia muscular de Duchenne verificou que o tratamento com melatonina em baixas doses durante 9 meses resultou na redução de IL-6 e outras citocinas. [12]

Entende-se que os doentes após cirurgia cardíaca estão mais suscetíveis a *delirium*. Um estudo procurou analisar a associação entre o SNP rs10830963 no gene recetor de melatonina 1B, que codifica o MT2, e a incidência de *delirium*. Este SNP pode causar disfunção e levar a que a melatonina se prolongue mais tempo no período da manhã, em comparação com o esperado por um ciclo circadiano fisiológico. Em cerca de 30% dos descendentes europeus encontramos este SNP, é o alelo G, em vez do C, pelo que um genótipo GG se associa a maior risco de *delirium* pós-operatório. [55]

Endocrinologia

Quanto ao seu papel na DM sugere-se por estudos de análise genómica que SNP's no locus do gene do recetor de melatonina 1 B estão associados a níveis elevados de glicose registados em doentes com DM2. Também variações genómicas no gene do recetor de melatonina MT2 contribuem para níveis elevados de glicemia em jejum, resistência a insulina e risco de DM II. A ativação deste recetor pode reduzir a secreção de insulina pelas células β do pâncreas quando estimuladas pela glicemia. [46].

Num estudo controlado em modelos animais a quem foi causado diabetes com uma dieta hiperlipídica e injeções múltiplas de estreptozotocina, que induz DM, foi usada a melatonina como parte do tratamento e verificou-se que reduzia a glicemia em jejum, o colesterol total e os valores de lipoproteína de baixa densidade - LDL. Verificou-se que reduziu o stress oxidativo e elevou os níveis de NO. [56]

Além do SCN que atua na regulação do ciclo de secreção de melatonina, existem outros relógios biológicos com função circadiana. Entre estes estão as células β -pancreáticas que sintetizam recetores MT2, que modulam a concentração intracelular de insulina através de 3 vias: 1 – através da redução dos níveis de cAMP que reduz a secreção de insulina; 2- redução dos níveis de cGMP com os mesmos efeitos; 3- ativação da via IP3 que estimula a secreção de insulina. No entanto o seu efeito predominante é o primeiro, pelo que previne a sobrecarga das respetivas células. Foi feita ainda uma

associação entre modelos de ratinho com DM2 e uma redução nos níveis séricos de melatonina. Este mecanismo poderá estar relacionado com vias catecolaminérgicas que inibem a síntese de insulina e estimulam a de melatonina, e durante as fases iniciais do processo da DM2^[57] verifica-se uma redução nos níveis de catecolaminas e melatonina, bem como um aumento da insulina. Os efeitos metabólicos da melatonina estendem-se ao musculo esquelético e tecido adiposo em que aumenta o *uptake* de glucose e reduz a produção noturna de glucose pelo fígado. Em modelos de ratinhos diabéticos reverteu-se ainda a h perinsulinemia com o tratamento de melatonina. A redu o dos níveis desta hormona por pinealectomia reduz os níveis de GLUT4 no tecido adiposo e musculo levando a intolerância a glicose. Foram identificados 7 SNP's na periferia ou dentro do gene do recetor MT2 que possuem associa o com a DM2 em asiáticos e europeus. Destes, o rs10830963 está mais associado a intolerância   glicose. ^[57] Também   defendido que os recetores MT1 são os responsáveis pela redu o na secre o de insulina, atuando nestas células pelas vias do cAMP, cGMP e dos recetores muscarínicos. ^[25]

Durante a menopausa regista-se um desequilíbrio no sistema redox a favor do processo oxidativo, que acelera o envelhecimento, acompanhado de um défice relativo de glutatião, tal como   observado em ratinhos ooforectomizados. Inclusive reconhece-se o glutatião como um antioxidante intracelular que atua como marcador de envelhecimento celular. Este pode ser sintetizado de novo no fígado; Assim com a redu o do GSH verifica-se um aumento relativo na peroxida o lipídica e dessa forma maior gera o de radicais livres. A melatonina   um fator que estimula a síntese de glutatião, além de promover a sua forma reduzida. Assim o dano oxidativo produzido pela peroxida o lipídica foi também reduzido.^[58]

No sentido de minimizar a deteriora o da fun o circadiana com o envelhecimento foi feita uma revisão que pretendeu estudar o benefício do uso de melatonina, outros cronobi ticos e atividades física, de contacto social e manuten o de um horário regular de refei es. Sabe-se que com o envelhecimento ocorre degenera o do SCN que atua como *pacemaker* do ciclo circadiano através de uma estrutura em rede de neur nios sincronizados através de vias de *feedback*, em que a síntese de proteínas-relógio permitem a sua autorregula o, estas são encontradas perifericamente. Tendo em conta que o ritmo gerado neste núcleo difere ligeiramente das 24 horas sucede que ocorre modula o externa por *zeitgebers*, em mamíferos temos o exemplo do ciclo luz-escuridão e a temperatura interna   outro *zeitgeber*. Com o envelhecimento ocorre redu o no número das suas células bem como das suas liga es sin pticas.^[48] Inclusive as respostas

comportamentais e de secreção de melatonina são reduzidas perante a resposta à luz, ao longo do envelhecimento. Um *zeitgeber* não fótico como a atividade motora também foi estudado, e sugere-se que a redução da atividade motora, através de um estilo de vida sedentário, acelera a instabilidade do ciclo circadiano. Sugere-se preferencialmente que a perda de função do SCN se deve aos defeitos de interação neuronal em vez de alterações nos mecanismos intracelulares genéticos. Assim é espectável que a atividade produzida neste núcleo seja insuficiente para modular os sinais periféricos mediante um ritmo circadiano. Esta disfunção acelera o processo de envelhecimento. ^[48] Neste processo ocorre uma diminuição na amplitude circadiana, como no ritmo de utilização de glicose ou de mRNA de péptido vasoativo intestinal -VIP - com aumento da variabilidade interdiária e da sua fragmentação. O que se torna particularmente notável na alteração da estrutura do sono. Verifica-se ainda uma disfunção caracterizada por avanço de fase. No entanto a temperatura interna e o ritmo pulsátil de secreção de melatonina encontram-se em atraso de fase relativamente ao padrão sono-vigília. Os investigadores descrevem ainda um fenómeno de Disseminação Extra-Circadiana - DEC — que corresponde à disfunção circadiana associada ao envelhecimento, descrita como a desorganização temporal das funções reguladas outrora pelo ciclo circadiano. Segundo os autores existem 4 tipos de DEC: 1- variabilidade global, associado a um desvio da média; 2- variabilidade circadiana; 3- variabilidade extra-circadiana; 4- quanto à amplitude das respetivas componentes. Estas manifestam-se em alterações distintas nos valores outrora espectáveis de temperatura, pressão arterial, pressão de pulso, frequência cardíaca, volume sistólico e resistência vascular. Estas alterações podem-se encontrar a partir dos 40 anos com tendência ao desenvolvimento de ciclos infradianos. Posteriormente a partir dos 60 anos ocorre um avanço de fase, cerca de 90-120 minutos, com aumento da variabilidade ultradiana. Defende-se o papel da administração de melatonina na estabilização do ciclo circadiano, sabe-se que quanto mais desregulado for o ciclo do sujeito maior a efetividade da administração de melatonina exógena. ^[48]

Um estudo comparativo aleatorizado avaliou a eficiência da epitalamina, um péptido extraído da glândula pineal, em indivíduos idosos com sinais de envelhecimento cardiovascular, sendo este estudo conduzido na presença de doença coronária. A disfunção pineal na síntese de melatonina verifica-se em indivíduos idosos, sendo este sinal evidente quando coincidem outras patologias associadas ao envelhecimento, nomeadamente verificam-se menores níveis de melatonina sérica em doentes coronários. O tratamento com epitalamina aumentou estes valores para o dobro ao fim de 3 anos. No

follow-up aos 15 anos de estudo verificou-se que este tratamento normalizara o ritmo circadiano de secreção de melatonina^[59], sugerindo esta como uma função fisiológica que também é afetada com o envelhecimento.

Oncologia

Quanto ao seu papel oncostático a melatonina tem efeito na via de sinalização VEGF e MMP-2 e MMP-9. Atua possivelmente como inibidor de angiogénese em contexto de neoplasia e por isso foi feito um estudo tendo como modelo o linfoma de Dalton que serve como exemplar da atividade pro-angiogénica característica que nesse estudo foi reduzida pela melatonina.^[60]

No sentido de desenvolver terapêuticas anti-angiogénicas que contornem os atuais problemas de toxicidade e aquisição de resistência, uma revisão procurou identificar componentes que poderiam integrar um *cocktail* de substâncias naturais não tóxicas, com ação pleiotrópica e anti-angiogénica. A melatonina foi uma das 10 identificadas. Em particular num mecanismo de resistência aos fármacos anti-angiogénicos que decorre de vias induzidas por hipóxia: perante a ação destes fármacos ocorrem alterações de metabolismo celular que aumentam a síntese de ERO's e reduzem a diferenciação celular, o que leva a maior potencial metastático. Assim a melatonina podia reduzir o dano produzido pela hipóxia através do seu efeito de *scavenger* de ERO's, além do seu efeito anti-inflamatório que impede dessa forma a síntese de fatores angiogénicos alternativos. Ademais a evidência sugere que a melatonina tem efeitos benéficos na ação de outros *hallmarks* de cancro: instabilidade genética, proliferação induzida por vias sustentadas de sinalização, resistência a sinais de anti proliferação, resistência a apoptose, imortalidade replicativa, desregulação metabólica, evasão imune, invasão/metastização, interações em micro-ambiente tumoral.^[61]

Num ensaio clínico em linhagens celulares de cancro colorretal, o tratamento com melatonina reduziu a taxa proliferativa das células através de modulação da apoptose, induzindo apoptose pela via mitocondrial e senescência, atenuando a atividade da telomerase e podendo induzir *cell arrest* das células cancerígenas. Esta associação é fortalecida pelo facto de em doentes com cancro colorretal haver redução dos níveis de melatonina. Esta hormona tem a propriedade de fazer *arrest* do ciclo celular na fase G2/M por estimular o inibidor de cinase dependente de ciclinas - CDKIs -, em células de

hepatoma. A senescência atua como bloqueio ao desenvolvimento de células tumorais e sugere-se que a melatonina tenha o papel de regular as suas vias, favorecendo o seu efeito em células tumorais. Não só nesta neoplasia a melatonina revelou potenciar a apoptose celular, mas também no neuroblastoma, carcinoma prostático e gástrico. Uma das vias implicadas é a sobre-expressão de proteínas pro-apoptóticas como a Bax, Bid e caspase-3, que em células leucémicas humanas revelou aumentar a apoptose via mitocôndria. Neste estudo original revelou-se que a melatonina aumentava o fluxo de autofagia. Os efeitos anti-proliferativos da melatonina são exercidos pelos recetores membranares, enquanto os efeitos de imunomodulação pelos seus recetores nucleares: ROR/RZR – que estimulam a secreção de citocinas como IL-2 e IL-6 pelos linfócitos. Pelo que neste sentido poderá exercer um dos seus efeitos anti-tumorais. ^[62]

Um estudo procurou avaliar o papel da melatonina enquanto adjuvante de radioterapia pelo seu efeito protetor dos tecidos, reduzindo os efeitos adversos da radioterapia. Os danos estendem-se a tecidos não irradiados diretamente. Um dos mecanismos nesta intervenção que resulta na libertação de grandes quantidade de ERO's é a supressão da SOD e da GPx, que culmina em stress oxidativo crónico e pode resultar em cancros secundários à irradiação. Irradiados ou não a melatonina parece proteger destes danos. Num modelo de estudo em animais verificou-se que tanto o tecido irradiado como o circundante não irradiado obtiveram supressão da SOD e GPx, sendo que o tratamento com melatonina resultou numa reversão significativa da atividade destas enzimas. Entende-se que esta hormona aumenta a atividade da enzima NFE2L2 que se sabe levar a maior quantidade de enzimas antioxidantes como a SOD, GPx, catalase, redutase de glutatião e GSH; pelo que a melatonina pode ter papel como citoprotetora neste contexto, embora o seu efeito seja distinto nos tecidos tumorais. ^[63]

Gastroenterologia

Num ensaio em ratinhos induziram Hipertensão Intra-Abdominal secundária em laboratório. No tratamento incluíram melatonina e obtiveram redução da expressão da via p38 proteína cinase ativada por mitogénio - MAPK - que está envolvida na resposta inflamatória intestinal causando dano ao epitélio e aumentando a permeabilidade intestinal, com alívio do dano intestinal e prevenção da mesma Hipertensão Intra-Abdominal secundária. Este efeito poderá ser mediado pela propriedade anti-inflamatória da melatonina. É de referir ainda o seu efeito na inibição da peroxidação lipídica. ^[64]

Conclusões

Sugere-se assim o benefício da melatonina na prevenção primária e secundária de eventos cardiovasculares, verificando-se potencial redução de sequelas. Os mecanismos em que a melatonina está envolvida, e pelos quais exerce benefícios, relaciona-se em grande parte com o atenuar das repercussões de lesões de isquemia-reperusão de diversos órgãos e sistemas.

No caso do EAM estas lesões são causas de arritmia e de extensão da zona de infarte, nos quais a evidência sugere haver papel terapêutico para a melatonina. Possivelmente também por atenuar a disfunção ventricular associada a fibrose miocárdica.

No caso da cardiopatia isquémica aguda é sugerido, pela investigação realizada até à data, que o seu efeito cardioprotetor é potenciado pela administração de melatonina antes do período de isquemia, possivelmente como condicionante do miocárdio. A evidência sugere ter efeito antiarrítmico e de controlo da hipertensão. Um dos mecanismos discutidos é por aumentar a biodisponibilidade do NO, entre outros.

Outros efeitos favoráveis cardiovasculares foram verificados com a administração de melatonina, nomeadamente: a redução dos níveis séricos de norepinefrina e dopamina, um aumento da variabilidade de FC e reduções na FC e PA, sugerindo desta forma atividade simpaticolítica.

No caso da aterosclerose, que ocorre via inflamação endotelial, a melatonina exerce efeitos protetores da barreira endotelial por inibir a inflamação que de outro modo aumentaria a permeabilidade endotelial. Protege ainda do dano vascular associado à angiotensina II.

No caso do AVC poderá evidenciar o mesmo benefício que se associa à sua propriedade antioxidante bem como de estabilizadora da membrana mitocondrial, efeito sugerido em diversos órgãos, desse modo prevenindo a apoptose. Sugere-se ainda que alivia o dano neurológico crónico exercido pelo tabaco atuando como estabilizador da BHE. O tecido cerebral é particularmente sensível a dano oxidativo, pelo que a melatonina evidencia um potencial destaque nas patologias relacionadas. Dado prevenir a neuroinflamação, envolvida em também diversas patologias neurológicas e psiquiátricas, poderá vir a ser discutido o seu potencial terapêutico nesses casos, como é sugerido para a Doença de Alzheimer.

Também em doentes oncológicos tratados com antraciclina, como a doxorubicina, pode justificar-se a prescrição de melatonina como terapêutica de minimização de efeitos secundários cardíacos. No caso da radioterapia o efeito antioxidante da melatonina poderá reduzir a região lesada por ERO's e tornar menos adversa estratégias terapêuticas com indicações já estabelecidas.

Além de atuar o dano tecidual associado a estes esquemas terapêuticos, sugere-se ainda um efeito anti-angiogénico e anti-proliferativo que poderá vir a ser analisado como adjuvante antineoplásico.

Nestes e noutros tecidos mencionados no presente trabalho, a melatonina evidencia efeitos pleiotrópicos, de largo espectro, cujo domínio por parte da ciência é escasso. A administração de melatonina foi aparentemente inócua nos estudos incluídos.

Defende-se assim um fundamento para a futura determinação das possibilidades terapêuticas da melatonina.

Referências Bibliográficas

1. Slominski M Radomir, Reiter, R.J., Natalia, L.S., S, O.R. and T., S.A. (2012) Melatonin membrane receptors in peripheral tissues: *Mol Cell Endocrinol*, **351**, 152–166.
2. Sapède, D. and Cau, E. (2013) The Pineal Gland from Development to Function. 1st ed., Elsevier Inc. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-416021-7.00005-5>.
3. Simko, F., Baka, T., Paulis, L. and Reiter, R.J. (2016) Elevated heart rate and nondipping heart rate as potential targets for melatonin: a review. *Journal of Pineal Research*, 2016: 10.1111/jpi.12348.
4. Rüger, M. and Scheer, F. (2011) Effects on circadian disruption on cardiometabolic system. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, **10**, 245–260.
5. Govender, J., Loos, B., Marais, E. and Engelbrecht, A.M. (2014) Mitochondrial catastrophe during doxorubicin-induced cardiotoxicity: A review of the protective role of melatonin. *Journal of Pineal Research*, **57**, 367–380.
6. Ramos, E., Patiño, P., Reiter, R.J., Gil-Martín, E., Marco-Contelles, J., Parada, E., et al. (2017) Ischemic brain injury: New insights on the protective role of melatonin. *Free Radical Biology and Medicine*, **104**, 32–53. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.01.005>.
7. Meng, X., Li, Y., Li, S., Zhou, Y., Gan, R.Y., Xu, D.P., et al. (2017) Dietary sources and bioactivities of melatonin. *Nutrients*, **9**, 1–64.
8. Goble, C. and Stamp, E. (1992) of Melatonin Impact of Prematurity * in Infants. 1992.
9. Schernhammer, E.S., Feskanich, D., Niu, C., Dopfel, R., Holmes, M.D. and Hankinson, S.E. (2009) Dietary correlates of urinary 6-sulfatoxymelatonin concentrations in the Nurses' Health Study cohorts. *American Journal of Clinical Nutrition*, **90**, 975–985.
10. Schernhammer, E.S., Berrino, F., Krogh, V., Secreto, G., Micheli, A., Venturelli, E., et al. (2008) Urinary 6-sulfatoxymelatonin levels and risk of breast cancer in postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst*, **100**, 898–905. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18544743>.
11. Wehrens, S.M.T., Hampton, S.M. and Skene, D.J. (2012) Heart rate variability and endothelial function after sleep deprivation and recovery sleep among male shift

- and non-shift workers. *Scandinavian Journal of Work, Environment and Health*, **38**, 171–181.
12. Lowes, D.A., Almawash, A.M., Webster, N.R., Reid, V.L. and Galley, H.F. (2011) Melatonin and structurally similar compounds have differing effects on inflammation and mitochondrial function in endothelial cells under conditions mimicking sepsis. *British Journal of Anaesthesia*, **107**, 193–201.
<http://dx.doi.org/10.1093/bja/aer149>.
 13. Koike, T., Takai, T., Hoashi, Y., Nakayama, M., Kosugi, Y., Nakashima, M., et al. (2011) Synthesis of a novel series of tricyclic dihydrofuran derivatives: Discovery of 8,9-dihydrofuro[3,2-c]pyrazolo[1,5-a]pyridines as melatonin receptor (MT1/MT2) ligands. *Journal of Medicinal Chemistry*, **54**, 4207–4218.
 14. Warren, M.B., Stabler, J. and Hagman, M.M. (2016) Intravenous melatonin abuse leading to recurrent aortic valve endocarditis: A case report and discussion. *BMC Psychiatry*, **16**, 39–41. <http://dx.doi.org/10.1186/s12888-016-0754-4>.
 15. Ekeloef, S., Halladin, N., Fonnes, S., Jensen, S.E., Zaremba, T., Rosenberg, J., et al. (2017) Effect of Intracoronary and Intravenous Melatonin on Myocardial Salvage Index in Patients with ST-Elevation Myocardial Infarction: a Randomized Placebo Controlled Trial. *Journal of Cardiovascular Translational Research*, **10**, 470–479.
 16. Dominguez-Rodriguez, A. and Abreu-Gonzalez, P. (2017) Future strategies for acute cardioprotection: ‘melatonin as promising therapy’. *Cardiovascular Research*, **113**, 1418–1418.
 17. Su, H., Li, J., Chen, T., Li, N., Xiao, J., Wang, S., et al. (2016) Melatonin attenuates angiotensin II-induced cardiomyocyte hypertrophy through the CyPA/CD147 signaling pathway. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **422**, 85–95.
 18. Dominguez-Rodriguez, A., Abreu-Gonzalez, P., Piccolo, R., Galasso, G. and Reiter, R.J. (2016) Melatonin is associated with reverse remodeling after cardiac resynchronization therapy in patients with heart failure and ventricular dyssynchrony. *International Journal of Cardiology*, **221**, 359–363.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.07.056>.
 19. Egan Benova, T., Szeiffova Bacova, B., Viczenczova, C., Diez, E., Barancik, M. and Tribulova, N. (2016) Protection of cardiac cell-to-cell coupling attenuate myocardial remodeling and proarrhythmia induced by hypertension. *Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*, **65 Suppl 1**, S29-42.
<https://rsm.idm.oclc.org/login?Return.url=https://www.rsm.ac.uk/?url=http://dialog>

- .proquest.com/professional/docview/1821400708?accountid=138535%5Cnhttps://rsm.idm.oclc.org/login?url=http://vw4tb4ff7s.search.serialssolutions.com/?ctx_ver=Z39.88-2004&ctx_e.
20. Yu, L., Li, B., Zhang, M., Jin, Z., Duan, W., Zhao, G., et al. (2016) Melatonin reduces PERK-eIF2 α -ATF4-mediated endoplasmic reticulum stress during myocardial ischemia–reperfusion injury: role of RISK and SAFE pathways interaction. *Apoptosis*, **21**, 809–824.
 21. Chu, L.Y., Wang, Y.F., Cheng, H.H., Kuo, C.C. and Wu, K.K. (2016) Endothelium-derived 5-methoxytryptophan protects endothelial barrier function by blocking p38 MAPK Activation. *PLoS ONE*, **11**, 1–18.
 22. Lingala, S.M. and Ghany, M.G.M.Mhs. (2016) 可乐定和右美托咪啶产生抗伤害协同作用 HHS Public Access. **25**, 289–313.
 23. Xie, S., Deng, Y., Pan, Y.Y., Wang, Z.H., Ren, J., Guo, X.L., et al. (2015) Melatonin protects against chronic intermittent hypoxia-induced cardiac hypertrophy by modulating autophagy through the 5' adenosine monophosphate-activated protein kinase pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **464**, 975–981. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.06.149>.
 24. Paredes, S.D., Forman, K.A., García, C., Vara, E., Escames, G. and Tresguerres, J.A.F. (2014) Protective actions of melatonin and growth hormone on the aged cardiovascular system. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, **18**, 79–88.
 25. Lochner, A. (2012) Cardioprotective effect of melatonin against ischaemia reperfusion damage. *Frontiers in Bioscience*, **E5**, 305–315.
 26. Zhu, H.Q., Li, Q., Dong, L.Y., Zhou, Q., Wang, H. and Wang, Y. (2014) MicroRNA-29b promotes high-fat diet-stimulated endothelial permeability and apoptosis in apoE knock-out mice by down-regulating MT1 expression. *International Journal of Cardiology*, **176**, 764–770. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2014.07.095>.
 27. Nakao, T., Morita, H., Maemura, K., Amiya, E., Inajima, T., Saito, Y., et al. (2013) Melatonin ameliorates Angiotensin II-induced vascular endothelial damage via its antioxidative properties. *Journal of Pineal Research*, **55**, 287–293.
 28. Arif, I.S., Hooper, C.L., Greco, F., Williams, A.C. and Boateng, S.Y. (2013) Increasing doxorubicin activity against breast cancer cells using PPAR γ -ligands

- and by exploiting circadian rhythms. *British Journal of Pharmacology*, **169**, 1178–1188.
29. Schepelmann, M., Molcan, L., Uhrova, H., Zeman, M. and Ellinger, I. (2011) The presence and localization of melatonin receptors in the rat aorta. *Cellular and Molecular Neurobiology*, **31**, 1257–1265.
 30. Dayoub, J.C., Ortiz, F., L6pez, L.C., Venegas, C., Del Pino-Zumaquero, A., Roda, O., et al. (2011) Synergism between melatonin and atorvastatin against endothelial cell damage induced by lipopolysaccharide. *Journal of Pineal Research*, **51**, 324–330.
 31. Yuan, X., Li, B., Li, H. and Xiu, R. (2011) Melatonin inhibits IL-1 β -induced monolayer permeability of human umbilical vein endothelial cells via Rac activation. *Journal of Pineal Research*, **51**, 220–225.
 32. Han, F., Chen, Y.X., Lu, Y.M., Huang, J.Y., Zhang, G.S., Tao, R.R., et al. (2011) Regulation of the ischemia-induced autophagy-lysosome processes by nitrosative stress in endothelial cells. *Journal of Pineal Research*, **51**, 124–135.
 33. Erer, D., Ozer, A., Arslan, M., Gl, O., Iriz, E., Elmas, C., et al. (2015) A pilot randomized trial comparing long-term effects of red and white wines on biomarkers of atherosclerosis. *Bratislavské lekárske listy*, **116**, 227–232.
http://www.elis.sk/index.php?page=shop.product_details&flypage=flypage.tpl&product_id=2748&category_id=90&option=com_virtuemart&vmchk=1&Itemid=1.
 34. Obayashi, K., Saeki, K. and Kurumatani, N. (2014) Asymmetric Dimethylarginine Attenuates the Association of Melatonin Secretion With Night-Time Blood Pressure and Dipping in Elderly Individuals. *Circulation Journal*, **78**, 2908–2914.
 35. Simko, F. and Paulis, L. (2013) Antifibrotic effect of melatonin - Perspective protection in hypertensive heart disease. *International Journal of Cardiology*, **168**, 2876–2877. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2013.03.139>.
 36. Relationship Between Nighttime Blood Pressure , the Renin-angiotensin System and Melatonin . Response ´ n arterial nocturna , el sistema ´ n entre la presio Relacio renina-angiotensina y la melatonina . Respuesta To the Editor , We appreciate the interest (2013) **66**, 2019.
 37. Cardiol, R.E. (2013) Unidad de Arritmias, Servicio de Cardiolog´a, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, Spain. **66**, 831–832.
 38. Dominguez-Rodriguez, A., Abreu-Gonzalez, P., Arroyo-Ucar, E., Avanzas, P. and Reiter, R.J. (2013) Global left ventricular longitudinal strain is associated with

- decreased melatonin levels in patients with acute myocardial infarction: A two-dimensional speckle tracking study. *Biomarkers*, **18**, 310–313.
39. Kostovski, E., Dahm, A.E.A., Iversen, N., Hjeltnes, N., Østerud, B., Sandset, P.M., et al. (2011) Melatonin stimulates release of tissue factor pathway inhibitor from the vascular endothelium. *Blood Coagulation and Fibrinolysis*, **22**, 254–259.
40. Hobson, S.R., Gurusinghe, S., Lim, R., Alers, N.O., Miller, S.L., Kingdom, J.C., et al. (2018) Melatonin improves endothelial function in vitro and prolongs pregnancy in women with early-onset preeclampsia. *Journal of Pineal Research*, **65**, 1–14.
41. Yiallourou, S.R., Wallace, E.M., Miller, S.L. and Horne, R.S.C. (2016) Effects of intrauterine growth restriction on sleep and the cardiovascular system: The use of melatonin as a potential therapy? *Sleep Medicine Reviews*, **26**, 64–73.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.smr.2015.04.001>.
42. Bagci, S., Berner, A.L., Reinsberg, J., Gast, A.S., Zur, B., Welzing, L., et al. (2012) Melatonin concentration in umbilical cord blood depends on mode of delivery. *Early Human Development*, **88**, 369–373.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2011.09.012>.
43. Pereira, J.C., Pradella Hallinan, M. and Alves, R.C. (2017) Secondary to excessive melatonin synthesis, the consumption of tryptophan from outside the blood-brain barrier and melatonin over-signaling in the pars tuberalis may be central to the pathophysiology of winter depression. *Medical Hypotheses*, **98**, 69–75.
44. Wang, C.K., Ahmed, M.M., Jiang, Q., Lu, N.N., Tan, C., Gao, Y.P., et al. (2017) Melatonin ameliorates hypoglycemic stress-induced brain endothelial tight junction injury by inhibiting protein nitration of TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator. *Journal of Pineal Research*, **63**, 1–18.
45. Xia, N. and Li, H. (2017) The role of perivascular adipose tissue in obesity-induced vascular dysfunction. *British Journal of Pharmacology*, **174**, 3425–3442.
46. Song, J., Whitcomb, D.J. and Kim, B.C. (2017) The role of melatonin in the onset and progression of type 3 diabetes. *Molecular Brain*, **10**, 1–10.
47. Wang, J., Wang, Z.M., Li, X.M., Li, F., Wu, J.J., Kong, L.Y., et al. (2016) Synthesis and evaluation of multi-target-directed ligands for the treatment of Alzheimer's disease based on the fusion of donepezil and melatonin. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **24**, 4324–4338. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2016.07.025>.
48. Gubin, D.G., Weinert, D. and Bolotnova, T. V (2016) Send Orders for Reprints to

- reprints@benthamscience.ae Age-dependent Changes of the Temporal Order- Causes and Treatment. 2016.
49. Alluri, H., Wilson, R.L., Shaji, C.A., Wiggins-Dohlvik, K., Patel, S., Liu, Y., et al. (2016) Melatonin preserves blood-brain barrier integrity and permeability via matrix metalloproteinase-9 inhibition. *PLoS ONE*, **11**, 1–18.
 50. Mazumder, M.K., Bhattacharya, P. and Borah, A. (2014) Inhibition of matrix metalloproteinase-2 and 9 by Piroxicam confer neuroprotection in cerebral ischemia: An in silico evaluation of the hypothesis. *Medical Hypotheses*, **83**, 697–701. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mehy.2014.09.021>.
 51. Chojnacki, J.E., Liu, K., Yan, X., Toldo, S., Selden, T., Estrada, M., et al. (2014) Jeremy E. Chojnacki, † , # Kai Liu, † , # Xing Yan, † Stefano Toldo, ‡ Tyler Selden, § Martin Estrada, ⊥ Mar í a Isabel Rodr í guez-Franco, ⊥ Matthew S. Halquist, || Dexian Ye, § and Shijun Zhang * , †. 2014.
 52. López-Iglesias, B., Pérez, C., Morales-García, J.A., Alonso-Gil, S., Pérez-Castillo, A., Romero, A., et al. (2014) New melatonin- N, N -dibenzyl(N -methyl)amine hybrids: Potent neurogenic agents with antioxidant, cholinergic, and neuroprotective properties as innovative drugs for alzheimers disease. *Journal of Medicinal Chemistry*, **57**, 3773–3785.
 53. Nair, S.M., Rahman, R.M.A., Clarkson, A.N., Sutherland, B.A., Taurin, S., Sammut, I.A., et al. (2011) Melatonin treatment following stroke induction modulates l-arginine metabolism. *Journal of Pineal Research*, **51**, 313–323.
 54. Teixeira, J., Silva, T., Andrade, P. and Borges, F. (2013) Alzheimer’s Disease and Antioxidant Therapy: How Long How Far? *Current Medicinal Chemistry*, **20**, 2939–2952. <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=0929-8673&volume=20&issue=24&spage=2939>.
 55. Mahanna-Gabrielli, E., Miano, T.A., Augoustides, J.G., Kim, C., Bavaria, J.E. and Andrew Kofke, W. (2018) Does the melatonin receptor 1B gene polymorphism have a role in postoperative delirium? *PLoS ONE*, **13**, 1–10.
 56. Salmanoglu, D.S., Gurpinar, T., Vural, K., Ekerbicer, N., Dariverenli, E. and Var, A. (2016) Melatonin and L-carnitin improves endothelial dysfunction and oxidative stress in Type 2 diabetic rats. *Redox Biology*, **8**, 199–204.
 57. Matuszek, M.A., Anton, A., Thillainathan, S. and Armstrong, N.J. (2015) Increased insulin following an oral glucose load, genetic variation near the melatonin

- receptor MTNR1B, but no biochemical evidence of endothelial dysfunction in young Asian men and women. *PLoS ONE*, **10**, 1–22.
58. Baeza, I., Fdez-Tresguerres, J., Ariznavarreta, C. and De La Fuente, M. (2010) Effects of growth hormone, melatonin, oestrogens and phytoestrogens on the oxidized glutathione (GSSG)/reduced glutathione (GSH) ratio and lipid peroxidation in aged ovariectomized rats. *Biogerontology*, **11**, 687–701.
59. Korkushko, O. V., Khavinson, V.K., Shatilo, V.B. and Antonyk-Sheglova, I.A. (2011) Peptide geroprotector from the pituitary gland inhibits rapid aging of elderly people: Results of 15-year follow-up. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, **151**, 366–369.
60. Kumari, R., Rawat, K., Kumari, A. and Shrivastava, A. (2017) Amelioration of Dalton's lymphoma-induced angiogenesis by melatonin. *Tumor Biology*, **39**.
61. Wang, Z., Dabrosin, C., Yin, X., Fuster, M.M., Arreola, A., Rathmell, W.K., et al. (2015) Broad targeting of angiogenesis for cancer prevention and therapy. *Seminars in Cancer Biology*, **35**, S224–S243.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.semcancer.2015.01.001>.
62. Hong, Y., Won, J., Lee, Y., Lee, S., Park, K., Chang, K.T., et al. (2014) Melatonin treatment induces interplay of apoptosis, autophagy, and senescence in human colorectal cancer cells. *Journal of Pineal Research*, **56**, 264–274.
63. Abadi, S.H.M.H., Shirazi, A., Alizadeh, A.M., Changizi, V., Najafi, M., Khalighfard, S., et al. (2018) The Effect of Melatonin on Superoxide Dismutase and Glutathione Peroxidase Activity, and Malondialdehyde Levels in the Targeted and the Non-targeted Lung and Heart Tissues after Irradiation in Xenograft Mice Colon Cancer. *Current Molecular Pharmacology*, **11**, 326–335.
64. Chang, M., Li, Y., Liu, D., Zhang, L., Zhang, H., Tang, H., et al. (2016) Melatonin prevents secondary intra-abdominal hypertension in rats possibly through inhibition of the p38 MAPK pathway. *Free Radical Biology and Medicine*, **97**, 192–203. <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.06.001>.