

Titolo: La melatonina come pietra angolare della Neuroimmunoendocrinologia - Melatonin as the cornerstone of Neuroimmunoendocrinology

Codice: MLT018

Autore: Kvetnoy et al.

Data: 2022

Rivista: *International Journal of Molecular Sciences* 23(3), 1835

Argomento: melatonina

Accesso libero: si

DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms23031835>

URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/3/1835>

BLOG: <https://www.metododibellaevidenzescientifiche.com//2023/11/10/mlt018-kvetnoy-et-al-2022/>

Parole chiave: melatonina; neuroimmunoendocrinologia; omeostasi; attività antiossidante; funzione anti-infiammatoria

Tumore: n/a

Traduzione: l'articolo è stato tradotto interamente senza semplificazioni

**Punti di interesse:** Negli ultimi dieci anni, la ricerca è stata attratta da un'ampia gamma di attività biologiche della melatonina e dal suo ruolo nell'attività cellulare, nella regolazione delle relazioni intercellulari e intersistemiche. La melatonina (MT) viene prodotta non solo nella ghiandola pineale ma anche nel tratto gastrointestinale, nel cervello, nel fegato, nei reni, nella ghiandola surrenale, nel cuore, nel timo, nelle ghiandole genitali, nella placenta, nell'utero, nelle piastrine, nei leucociti eosinofili, nelle cellule killer naturali e in altre cellule del sistema immunitario (MT extrapineale). La MT ha un effetto regolatore attraverso il legame con i suoi specifici recettori. Nell'uomo sono stati identificati due tipi di recettori di membrana (MT1 e MT2), recettori a livello della membrana nucleare (ROR $\alpha$ /RZR) e recettori posizionati nel citosol della cellula. Ma avendo un'elevata permeabilità svolge fondamentali azioni dirette anche senza l'utilizzo di recettori: ha un effetto sistemico a livello cellulare modulando il citoscheletro e la divisione cellulare e come scavenger di radicali liberi dell'ossigeno.

### **Melatonina pineale**

La funzione endocrina della ghiandola pineale è controllata dai nuclei ipotalamici soprachiasmatici (HSN) e ha un ritmo circadiano. La luce sopprime la produzione e la secrezione di MT, e quindi il suo livello massimo nella ghiandola pineale e nel sangue umano si osserva a mezzanotte e il minimo durante il giorno. La MT pineale viene rilasciata nel sangue e nel liquido cerebrospinale. Come messaggero endocrino, la MT trasferisce quantitativamente il segnale luminoso ad altri tessuti, esprimendo i propri recettori e fornendo così informazioni al corpo legate al tempo. La MT pineale determina la sincronizzazione dei ritmi circadiani dei sistemi funzionali del corpo con i cambiamenti regolari nell'ambiente. Svolge un ruolo cruciale nella regolazione dei ritmi stagionali, del metabolismo, della risposta immunitaria, della funzione riproduttiva e di altri processi fisiologici vitali. Per il momento la MT è considerata un regolatore integrale dei ritmi biologici e il più potente antiossidante endogeno.

### **Melatonina extrapineale**

Il contenuto di MT nel corpo è determinato non solo dalla secrezione della ghiandola pineale, il cui contributo ammonta al 5%, ma anche da cellule con localizzazione extrapineale che producono MT che sono parte integrante del sistema neuro-immuno-endocrino diffuso (DNIES). La produzione extra pineale di MT non è regolata dal fotoperiodo e dalla luce. La sintesi della MT (non solo da parte delle cellule endocrine ma anche da parte delle cellule nervose, immunitarie e di altro tipo) determina un'ampiezza unica del coinvolgimento di questa molecola in quasi tutte le funzioni fisiologiche vitali del corpo. La MT occupa una posizione esclusiva per quanto riguarda la diversità dei siti in cui viene sintetizzata e secreta, il che consente di considerare la MT come la “pietra angolare” della neuroimmunoendocrinologia.

La MT sintetizzata nelle cellule del sistema neuroimmunoendocrino diffuso arriva nel sangue in piccole quantità, e produce principalmente effetti paracrini e autocrini nei luoghi della sua sintesi.

### **Melatonina extrapineale e sistema nervoso**

La MT viene prodotta in diverse zone del cervello. È stato dimostrato che la produzione di questa MT non è associata al fotoperiodo, ma all'attività metabolica e alla formazione di derivati tossici dell'ossigeno. La MT agisce come un potente neuroprotettore, antiossidante e antinfiammatorio.

### **Melatonina extrapineale nel sistema immunitario**

Il timo, le cellule del sistema immunitario e le cellule endoteliali contengono MT in varie concentrazioni. La MT endogena insieme alla MT pineale modula e regola la funzione del timo e l'omeostasi immunitaria. Anche il midollo osseo è un tessuto con un contenuto sostanzialmente aumentato di MT. Nella maggior parte delle cellule immunocompetenti, la MT o uno dei suoi metaboliti esercita effetti antinfiammatori e antiossidanti, fornendo un meccanismo difensivo che consente di evitare danni ai tessuti e l'insorgenza di malattie infiammatorie croniche.

Un pattern di produzione robusto della melatonina può quindi prevenire eventi infettivi e la proliferazione maligna. Comporta una diminuzione della frequenza di attivazione specifica e acuta del sistema immunitario, che viene percepito come un evento di stress a causa dei suoi correlati neuroendocrini, e documenta l'esistenza di un importante legame fisiologico tra il sistema neuroendocrino e il sistema immunitario.

### **Melatonina nel tratto gastrointestinale**

Data l'ampia superficie totale del tratto gastrointestinale e le concentrazioni relativamente elevate di MT per grammo di tessuto, è stato calcolato che la quantità di MT prodotta è 400-500 volte superiore a quella della ghiandola pineale. La produzione di MT nel tratto gastrointestinale non è circadiana ma governata dall'assunzione di cibo. Gli effetti della MT all'interno del tratto gastrointestinale sono mediati dai recettori di membrana e nucleari, ma potrebbero essere anche mediati dai suoi recettori mitocondriali, non di membrana. La presenza di MT all'interno e all'esterno delle cellule e di una varietà di recettori determina i suoi molteplici effetti fisiologici nel tratto gastrointestinale. La MT regola la motilità della muscolatura liscia, il trasporto transmembrana di elettroliti e ioni, il rilascio di calcio e la secrezione di ioni bicarbonato dalle cellule che neutralizzano il contenuto di acido nello stomaco, il contenuto di acqua nell'intestino, l'attività mitotica. Svolge un ruolo importante nella regolazione neuromorale della funzione enzimatica nel tratto gastrointestinale. Elimina un'ampia gamma di specie reattive dell'ossigeno, svolge una funzione antinfiammatoria nel tratto gastrointestinale. La MT può ripristinare l'equilibrio del microbiota intestinale.

La MT è sintetizzata negli epatociti, dove la sua distribuzione subcellulare si è rivelata maggiore rispetto a quella del siero, e viene espulsa con la bile. Grazie alle sue proprietà antiossidanti e

antinfiammatorie, l'MT protegge la cistifellea e l'epitelio intestinale dagli acidi biliari o da altri prodotti del metabolismo durante la digestione.

## **Melatonina extrapineale in altri organi viscerali**

### **Cuore**

Nel cuore sono state identificate la presenza degli enzimi che controllano la sintesi della melatonina. La produzione locale di MT è stata osservata nei cardiomiociti, dove non è controllata fotoperiodicamente ma cambia durante il giorno. È stato notato che il contenuto di MT mitocondriale nel cuore nell'arco delle 24 ore è significativamente più alto che nel cervello. I recettori MT1 e MT2 sono presenti nei cardiomiociti umani e nelle arterie. La melatonina può ridurre la generazione di ROS (specie reattive dell'ossigeno), preservare la stabilità mitocondriale, ripristinare una robusta funzione mitocondriale per la produzione continua di ATP nei tessuti cardiaci, proteggere dall'autofagia e dall'apoptosi nei cardiomiociti. La melatonina svolge un ruolo fondamentale nel mantenimento dell'omeostasi del calcio nelle cellule muscolari cardiache.

### **Pelle**

La MT è sintetizzata nella pelle, dove partecipa alla regolazione della crescita e della pigmentazione dei capelli e inibisce la proliferazione delle cellule del melanoma. L'attività antiossidante della MT protegge dalle radiazioni ultraviolette e dai raggi X, dalle ustioni e da altri impatti che possono causare danni alla pelle. Nella pelle viene prodotta una quantità di MT molto maggiore di quella che si trova nel siero del sangue.

## **Organi riproduttivi e sviluppo embrionale**

La MT svolge un ruolo chiave nella fisiologia della riproduzione regolando la produzione di prolattina, ormoni follicolo-stimolanti e luteinizzanti. La sintesi di MT nelle ovaie e nei testicoli riflette la regolazione autocrina e paracrina della fisiologia riproduttiva, garantendo ovuli e spermatozoi sani. Nelle donne, la MT sintetizzata dalle cellule follicolari partecipa all'ovulazione e all'omeostasi del tessuto placentare, allo sviluppo pre e post impianto dell'embrione, grazie ai suoi effetti antinfiammatori e antiossidanti. Inoltre, attraverso i recettori MT1 e MT2 situati sulle membrane dell'endometrio, dell'ovocita e della blastocisti, la MT promuove l'impianto e inibisce fattori che lo impediscono.

La placenta, come parte del sistema neuroimmunoendocrino diffuso, svolge un ruolo estremamente importante nella regolazione dei rapporti tra madre e feto, ed è la MT e il suo ritmo di secrezione circadiano a garantire il successo dello sviluppo placentare. La MT e i suoi metaboliti agendo come spazzini diretti dei radicali liberi formati durante la gravidanza proteggono contro i danni dei radicali liberi a livello cellulare e tissutale all'interno del sistema madre-placenta-feto.

Le prime cellule endocrine compaiono nel retto e nel colon del feto nella 6a-9a settimana di sviluppo prenatale. I recettori MT si trovano nei tessuti fetali centrali e periferici nelle prime fasi dello sviluppo intrauterino. Durante la vita prenatale, i nuclei soprachiasmatici e gli organi fetali sono oscillatori circadiani, la cui attività ritmica è innescata e dipende delle attività vitali nella madre e dai suoi messaggeri primari dei bioritmi cioè dalla MT. Ciò garantisce l'integrazione dei bioritmi endogeni dei sistemi funzionali del bambino nel sistema circadiano dell'adulto. L'ulteriore maturazione del driver del ritmo centrale continua dopo la nascita del bambino, e la MT prodotta dalle cellule mononucleate, dai fagociti polimorfonucleati, dalle cellule endoteliali nelle ghiandole mammarie e trasmessa con il latte contribuisce anche al supporto e allo sviluppo dei ritmi circadiani nei neuroni della corteccia cerebrale e in altre regioni del sistema nervoso centrale.

Pertanto, nell'ontogenesi prenatale, la MT extrapineale è la molecola chiave che dirige e coordina il processo genetico dello sviluppo morfologico e funzionale del feto, che è cruciale per il successo dell'adattamento postnatale a un nuovo ambiente e una vita sana nei mesi e negli anni successivi.

### **Melatonina e mitocondri**

I mitocondri, presenti in tutte le cellule del corpo (eccetto gli eritrociti), svolgono il ruolo chiave nel loro metabolismo, nell'omeostasi del calcio, nell'apoptosi e nella regolazione di molteplici processi fisiologici e patologici. Sono responsabili della produzione di energia (ATP) che risulta dal metabolismo del glucosio (glicolisi) e dalla respirazione cellulare (fosforilazione ossidativa) nella membrana mitocondriale interna. Essendo responsabili della fornitura di energia alle cellule mediante fosforilazione ossidativa, i mitocondri sono il luogo principale per la generazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS - specie reattive dell'ossigeno).

Nei mitocondri vengono prodotti anche ossido nitrico (NO) e perossinitrito (ONOO<sup>-</sup>), precursori per la sintesi di macromolecole come DNA/RNA, proteine e lipidi. Partecipano al mantenimento dell'omeostasi cellulare del Ca<sup>2+</sup>. Regolano l'apoptosi cellulare.

La neutralizzazione dello stress ossidativo e la riprogrammazione del metabolismo alterato nelle cellule sono determinate dalla MT sintetizzata nei mitocondri dove la sua distribuzione è molto più elevata rispetto ad altri organelli subcellulari e non ha un ritmo circadiano. L'esistenza della MT nei mitocondri come risultato sia della sua sintesi che del suo assorbimento fornisce alcuni benefici funzionali a questi organelli e alle cellule in generale. Alte concentrazioni di MT e le sue molteplici azioni come antiossidante forniscono una potente protezione a questi organelli esposti all'impatto dei radicali liberi. Stimola la produzione di enzimi antiossidanti, sopprime quella di enzimi pro-ossidanti.

La MT regola la funzione mitocondriale mantenendola in efficienza, regolando la produzione di ATP e la produzione di ROS. In determinate circostanze, la MT riduce il consumo di ossigeno da parte dei mitocondri, quando è necessario proteggere questi organelli dall'eccessivo stress ossidativo e prevenire la degradazione ossidativa del DNA mitocondriale. La perdita di un potente antiossidante mitocondriale come l'MT può avere gravi conseguenze per aumento dello stress ossidativo e ridotta produzione di ATP seguita da un aumento della formazione di radicali liberi. Questi cambiamenti hanno conseguenze disastrose per la fisiologia mitocondriale e cellulare e sono comuni nelle malattie mitocondriali.

Pertanto, la MT, attraverso l'eliminazione diretta dei ROS (specie reattive dell'ossigeno) nei mitocondri, l'attivazione della protezione antiossidante e la preservazione dell'integrità della membrana, svolge un ruolo cruciale nel mantenimento delle normali funzioni mitocondriali e dello scambio energetico nelle cellule.

### **La melatonina come marcatore neuroimmunoendocrino e bersaglio molecolare per malattie socialmente significative**

Gli studi sui meccanismi che controllano le attività vitali a livello subcellulare, cellulare e tissutale e le interazioni dei sistemi funzionali in varie condizioni ambientali hanno evidenziato il ruolo chiave della diminuzione della produzione di MT, principalmente MT pineale, nei processi di invecchiamento, crescita tumorale, malattie degenerative legate all'età e stati patologici come obesità, diabete mellito, sindrome metabolica, ipertensione, disturbi del tratto gastrointestinale, ecc. Il principale fattore che promuove il loro sviluppo è lo stress ossidativo che causa danni alle macromolecole cellulari, incluso DNA, proteine e i lipidi, come risultato della disfunzione mitocondriale dovuta alla deplezione di MT in quegli organelli. L'interruzione dei processi antiossidanti di trasferimento di elettroni all'interno della cellula e della fosforilazione ossidativa, la perossidazione dei fosfolipidi della membrana mitocondriale, i cambiamenti nella fluidità e permeabilità della membrana sono processi che determinano la disfunzione mitocondriale con l'invecchiamento e può essere la ragione principale di un'ampia gamma di condizioni patologiche. Numerosi studi nel campo della neurologia, endocrinologia, cardiologia, oncologia, medicina riproduttiva e perinatale hanno dimostrato il ruolo chiave della MT nella protezione dei tessuti dai

danni ossidativi, per gli effetti benefici su i mitocondri, per effetti immunomodulatori e anti-apoptotici, nonché il mantenimento dell'omeostasi cronobiologica.

Il trattamento con MT dell'ischemia cerebrale aumenta la sopravvivenza e riduce la neurodegenerazione. Per il coinvolgimento della MT nella regolazione dei processi infiammatori, nel metabolismo del carbonio e dei lipidi, la sua applicazione è efficace per il trattamento profilattico dell'aterosclerosi, del danno ischemico cerebrale, delle malattie cerebrovascolari, ecc.. È stato dimostrato che la MT esercita effetti antitumorali associati alla regolazione della funzione mitocondriale. La MT fornisce un meccanismo protettivo fondamentale grazie alla sua capacità di modificare il metabolismo nelle cellule tumorali, provocando un aumento dell'apoptosi, inibendo la loro crescita nel cancro del polmone, nella ghiandola mammaria e nei tumori del colon, e le loro metastasi. L'invecchiamento è un fattore di rischio primario per le malattie neurodegenerative. Nei modelli sperimentali di Alzheimer e di Parkinson, la neurodegenerazione osservata è stata parzialmente prevenuta dalla MT.

In conclusione, la MT è coinvolta nel mantenimento dell'omeostasi nei vari tessuti degli organi e nella protezione della loro attività funzionale in caso di esposizione a condizioni ambientali sfavorevoli. È artefice del controllo delle relazioni intercellulari e intersistemiche, fornisce consistenza e unitarietà dell'ambiente interno di un organismo, e la sua coordinazione e protezione nell'interazione con un ambiente esterno soggetto a cambiamento.

Un'ampia gamma di funzioni svolte dalla MT extrapineale, le sue azioni endocrine, paracrine e autocrine per regolare e proteggere i tessuti sono determinate dalla sua sintesi nei mitocondri e dalla regolazione dell'omeostasi di ossido-riduzione nelle cellule. La realizzazione delle funzioni antiossidanti e antinfiammatorie della MT richiede la sua elevata concentrazione nei tessuti rispetto al suo livello nel siero del sangue. L'interruzione di questi processi porta alla disfunzione di cellule e tessuti, alla disfunzione mitocondriale e allo sviluppo di varie condizioni fisiopatologiche.

Traduzione articolo

## **Riassunto**

**Recentemente è stata prestata molta attenzione allo studio della melatonina, un ormone la cui sintesi è stata individuata per la prima volta nell'epifisi (ghiandola pineale). Questo interesse è dovuto alla scoperta del ruolo della melatonina in numerosi processi fisiologici. È stata la scoperta della sintesi della melatonina negli organi endocrini (ghiandola pineale), nelle strutture neurali (cellule di Purkinje nel cervelletto, fotorecettori retinici) e nelle cellule immunocompetenti (linfociti T, cellule NK, mastociti) che ha innescato l'evoluzione di nuovi approcci alla regolazione del segnale unificato dell'omeostasi, che, all'inizio del 21° secolo, ha portato alla creazione di una nuova disciplina biomedica integrale: la neuroimmunoendocrinologia. Mentre numerosi ormoni sono stati riscontrati nell'ultimo decennio al di fuori dei luoghi "classici" della loro formazione, la melatonina occupa una posizione esclusiva per la diversità dei siti in cui viene sintetizzata e secreta. Questa recensione fornisce una panoramica e una discussione dei principali dati riguardanti il ruolo della melatonina in vari processi fisiologici e patologici, il che fornisce le basi per considerare la melatonina come la "pietra angolare" su cui è stata costruita la neuroimmunoendocrinologia come concetto integrale di regolazione dell'omeostasi.**

## **1. Introduzione**

Negli ultimi dieci anni, la ricerca è stata attratta da un'ampia gamma di attività biologiche della melatonina e dal suo ruolo nell'attività cellulare, nella regolazione delle relazioni intercellulari e intersistemiche, che forniscono consistenza e unitarietà dell'ambiente interno di un organismo e la sua protezione durante l'interazione dell'organismo stesso con un ambiente esterno soggetto a cambiamenti [1–5].

La melatonina (MT) viene prodotta non solo nella ghiandola pineale ma anche nel tratto gastrointestinale, nel cervello, nel fegato, nei reni, nella ghiandola surrenale, nel cuore, nel timo, nelle ghiandole genitali, nella placenta, nell'utero, nelle piastrine, nei leucociti eosinofili, nelle cellule killer naturali e in altre cellule del sistema immunitario [6–10] (Figura 1).

La MT viene sintetizzata dall'amminoacido triptofano che, attraverso idrossilazione e decarbossilazione, si trasforma in serotonina, dalla quale viene prodotta la MT con l'aiuto degli enzimi N-acetiltransferasi (NAT) e idrossiindolo O-metiltransferasi (HIOMT). La funzione endocrina della ghiandola pineale è controllata dai nuclei ipotalamici soprachiasmatici (HSN) e ha un ritmo circadiano.

L'informazione fotica proveniente dalle cellule gangliari della retina passa attraverso il tratto retino-ipotalamico al nucleo soprachiasmatico (SCN), da cui i segnali vanno ai gangli cervicali superiori per poi raggiungere la ghiandola pineale attraverso i nervi noradrenergici simpatici e attivare i pinealociti. La luce sopprime la produzione e la secrezione di MT, e quindi il suo livello massimo nella ghiandola pineale e nel sangue umano si osserva a mezzanotte e il minimo durante il giorno [11,12].

La MT pineale viene rilasciata nel sangue e nel liquido cerebrospinale, mentre la MT sintetizzata nelle cellule del sistema neuroimmunoendocrino diffuso [7,13] arriva nel sangue in piccole quantità e produce effetti paracrini e autocrini nei luoghi della sua sintesi. La MT può facilmente attraversare la barriera ematoencefalica, raggiungendo i capillari dove il 70% della MT si lega all'albumina. La MT viene metabolizzata non solo nel fegato ma anche in altri tessuti (cervello, intestino) dove sono stati trovati enzimi specializzati [14,15]. La MT ha un effetto regolatore attraverso il legame con i suoi specifici recettori. Nell'uomo sono stati identificati due tipi di recettori di membrana (MT1 e MT2) i cui geni sono localizzati nei cromosomi (4q35 e 11q21-22), nonché recettori nucleari (ROR $\alpha$ /RZR) [9,16] e un recettore citosolico ad affinità inferiore, denominato MT3. MT3 è stato recentemente identificato come QR2 (chinone reduttasi 2), il che è significativo poiché collega gli effetti antiossidanti della melatonina a un meccanismo d'azione [17]. I risultati mostrano l'esistenza di diversi presunti recettori citosolici della melatonina, tra cui l'enzima chinone reduttasi 2 (il recettore MT3), recettori nucleari ROR $\alpha$ /RZR e la calmodulina.

Le prove indicano che le cellule immunitarie sono i principali siti di ROR $\alpha$ 1 e ROR $\alpha$ 2 responsabili della mediazione degli effetti della melatonina, mentre RZR $\beta$  è abbondante nella ghiandola pineale. È stato dimostrato che ROR $\alpha$  è un recettore attivo nella regolazione degli enzimi antiossidanti che controllano l'infiammazione e lo stress ossidativo [18]. I recettori MT sono stati trovati nei nuclei soprachiasmatici ipotalamici, nella corteccia del cervelletto, nella retina, nella milza, nel fegato, nelle ghiandole genitali e mammarie, nell'utero, nel timo, nel tratto gastrointestinale, nei trombociti e nei linfociti [19]. Nel cervello sono stati trovati numerosi recettori proteici di membrana della MT

che sono accoppiati con la proteina legante i nucleotidi guanina (proteina G) e sono rappresentati nella massima misura nell'ipotalamo e nella ghiandola pineale [16,20,21].

La MT può attraversare la membrana, legarsi ai recettori proteici presenti sulla superficie del nucleo, penetrare nel nucleo e realizzare la sua azione a livello della cromatina nucleare, con un effetto diretto sulla sintesi proteica da parte dell'apparato genetico della cellula. Avendo un'elevata permeabilità anche in assenza di recettori, la molecola MT ha un effetto sistemico a livello cellulare modulando il citoscheletro e la funzione mitotica attraverso il legame con la calmodulina e come scavenger di radicali liberi dell'ossigeno [3].

## 2. Melatonina pineale

La melatonina (N-acetil-5-metossitriptamina) fu scoperta e isolata dagli estratti della ghiandola pineale bovina dal dermatologo americano Aaron Lerner nel 1958. Lerner, un ricercatore dell'Università di Yale che studiava la natura della vitiligine, cercò di trovare sostanze chimiche responsabili della pigmentazione. Trovò un articolo datato 1917 [22], in cui si riportava che l'estratto nutrito delle ghiandole pineali delle mucche, posto in un barattolo con i girini, schiariva la loro pelle entro 30 minuti. La pelle del girino divenne così trasparente che si poteva osservare il funzionamento del cuore e dell'intestino.

Nel 1958, Lerner isolò un estratto dalle ghiandole pineali bovine che schiariva la pelle delle rane. Poi tutta la ricerca è stata indirizzata alla ricerca di un componente chiave. Lerner capì che stava cercando un ormone iperattivo capace di decolorare la pelle migliaia di volte più efficacemente dell'adrenalina. Lerner e colleghi hanno processato 250.000 ghiandole pineali, ma hanno estratto troppo poca sostanza attiva, quindi è stato deciso di chiudere quell'esperimento prolungato. Ma nelle quattro settimane previste per completare il lavoro, sono riusciti a identificare la struttura del principio attivo primario. Si trattava della N-acetil-5-metossitriptamina, che Lerner chiamò "MT" (dal greco "melas" – nero e "tonin" – derivato dalla serotonina).

Lerner presentò la sua scoperta al pubblico in un articolo di una pagina pubblicato nel 1958 sul Journal of the American Chemical Society [23].

Nella ghiandola pineale, la produzione di MT da parte dei pinealociti è controllata da un segnale circadiano proveniente dal nucleo soprachiasmatico (SCN), associato al fotoperiodo. L'attivazione dei neuroni SCN da parte della luce ambientale percepita dalla retina sopprime la sintesi di MT [12] (Figura 2).

La MT, a sua volta, può indebolire notevolmente l'attività di SCN. Ciò stimola ulteriormente la secrezione di MT durante la notte e contribuisce ad un aumento complessivo dell'ampiezza dei ritmi circadiani. Come messaggero endocrino, la MT trasferisce quantitativamente il segnale luminoso ad altri tessuti, esprimendo i propri recettori e fornendo così informazioni legate al tempo al corpo [24].

L'interazione temporale e funzionale tra MT e SCN e la loro reazione alla luce ambientale assicurano la sincronizzazione dei ritmi circadiani dei sistemi funzionali del corpo con i cambiamenti regolari nell'ambiente. I nuclei paraventricolari ipotalamici agiscono come il relè più importante tra l'SCN e la sintesi della melatonina nella ghiandola pineale, fornendo una

stimolazione tonica stabile dell'attività della ghiandola pineale durante la notte, che viene inibita durante il giorno dal rilascio di GABA dovuto all'SCN. La MT pineale svolge un ruolo cruciale nella regolazione dei ritmi stagionali nonché del metabolismo, della risposta immunitaria, della funzione riproduttiva e di altri processi fisiologici vitali [25,26].

L'effetto immunomodulatore della MT si basa su una risposta endocrina delle cellule immunologiche circolanti e delle cellule precursori nel midollo osseo, che esprimono i suoi recettori. È stato dimostrato che la sintesi ritmica della MT è necessaria per modulare le fluttuazioni circadiane e stagionali delle funzioni immunitarie e per l'efficace funzionamento dell'asse immuno-pineale [27]. La MT influenza i processi di crescita e la sintesi degli ormoni della ghiandola tiroidea [28].

Per il momento l'MT è considerato un regolatore integrale dei ritmi biologici e il più potente antiossidante endogeno.

### **3. Melatonina extrapineale**

Il contenuto di MT nel corpo è determinato non solo dalla secrezione della ghiandola pineale, il cui contributo ammonta al 5% [29], ma anche dalla localizzazione extrapineale delle cellule che producono MT e dalle fonti intracellulari di sintesi, dai cambiamenti nel volume del fluido extracellulare, dal legame dei ormoni alle proteine del sangue, tassi metabolici ed escretori a seconda di vari fattori regolatori esterni ed interni. Le cellule che producono MT extrapineale sono parte integrante del sistema neuro-immuno-endocrino diffuso (DNIES) in cui distinguiamo livelli di popolazione centrale e periferica di cellule che sintetizzano MT [13].

Il livello centrale comprende le cellule pineali e le cellule del sistema visivo, in cui la secrezione di MT dipende dall'illuminazione ambientale [30], mentre in altri tessuti non esiste questo meccanismo di controllo di produzione di MT da parte delle cellule endocrine DNIES. Inoltre, la sintesi della MT (non solo da parte delle cellule endocrine ma anche da parte delle cellule nervose, immunitarie e di altro tipo) determina un'ampiezza unica del suo coinvolgimento in quasi tutte le funzioni fisiologiche vitali del corpo.

Sebbene negli ultimi anni numerosi ormoni siano stati verificati al di fuori dei luoghi "classici" della loro formazione, la MT occupa una posizione esclusiva per quanto riguarda la diversità dei luoghi in cui viene sintetizzato e secreto, il che consente di considerare la MT come la "pietra angolare" della neuroimmunoendocrinologia.

È stata la scoperta della sintesi dei MT negli organi endocrini (ghiandola pineale), nelle strutture neurali (cellule di Purkinje nel cervelletto, fotorecettori retinici) e nelle cellule immunocompetenti (linfociti T, cellule NK, mastociti) che ha innescato l'evoluzione di nuovi approcci alla regolazione unificata del segnale dell'omeostasi, che, all'inizio del 21° secolo, ha portato alla creazione di una nuova disciplina biomedica integrale: la neuro – immuno - endocrinologia [30].

#### **3.1. Melatonina nel sistema nervoso**

La capacità, determinata evolutivamente di produrre MT extrapineale nel cervello e di espressione dei suoi recettori implica che la MT è coinvolta nella protezione e il ripristino di attività di sostegno vitale nel caso di verificarsi di impatto di fattori avversi [31]. La produzione di MT nel cervello è

evidenziata dall'esistenza dei suoi enzimi di sintesi (AANAT e HIOMT) in varie strutture e dall'mRNA che li codifica [32,33], e dai suoi metaboliti N1-acetil-N2-formil-5-metossichinuramina (AFMK) e N1-acetil-5-metossichinuramina (AMK) [34]. Questi ultimi sono considerati potenti antiossidanti in grado di assorbire i radicali liberi e di attivare la cascata di scavenging dei radicali liberi [35]. Negli astrociti sono stati trovati enzimi AANAT e HIOMT, che possono secernere MT in colture cellulari della corteccia di ratto e della linea cellulare di glioma C6 [2,36]. L'attività di AANAT è stata osservata nell'ippocampo, nel corpo striato, nel cervelletto, nel bulbo olfattivo e nella corteccia prefrontale [37,38]. La produzione di MT è risultata particolarmente elevata in alcune regioni del cervello, tra cui l'ipotalamo, il ponte cerebellico, il midollo allungato e il cervelletto [39,40]. È stato dimostrato che la produzione di questa MT non è associata al fotoperiodo, mentre i cambiamenti nella distribuzione subcellulare di MT sono dovuti a specifiche dell'attività metabolica e alla formazione di derivati tossici dell'ossigeno [9]. L'aumento della sintesi e della scarica di MT nel cervello in caso di ipossia acuta e lesioni cerebrali traumatiche negli esseri umani [41] sono mediate dallo stress in cui la MT agisce come un potente neuroprotettore e antiossidante [42]. Nelle cellule staminali neurali coltivate della zona subventricolare di topi adulti, i ricercatori hanno trovato una grande quantità di MT e la sua produzione era ancora maggiore quando queste cellule si differenziavano in neuroni maturi. L'effettiva assenza di cellule gliali in quelle colture indica che i neuroni stessi possono sintetizzare la MT.

La sintesi e la presenza di MT nei neuroni e/o nella glia indicano che la MT generata localmente può imporre funzioni intra-, para- e autocrine nel cervello, possibilmente regolando l'omeostasi neurale controllando il rilascio di neurotrasmettitori e la neurogenesi. Inoltre, la MT esercita un effetto anti-ecitotossico e protettivo sul cervello diminuendo l'attività del glutammato e aumentando il GABA [10]. È stato dimostrato che il trattamento con melatonina dopo una lesione cerebrale riduce la reattività degli astrociti e l'apoptosi delle cellule neuronali nell'ippocampo e nel giro dentato [43].

La melatonina, un noto farmaco antinfiammatorio, sopprime i livelli di IL-6, TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  in modelli animali di danno da ischemia/riperfusion cerebrale, emorragia subaracnoidea, danno cerebrale traumatico e inibendo la gli astrociti reattivi sopprimono anche l'attivazione microgliale, attenuando la neuroinfiammazione nel cervello [44,45].

La melatonina interagisce in molteplici modi con la microglia, sia direttamente che, attraverso vie di crosstalk (diafonia) con astrociti e neuroni, indirettamente. L'interazione immunologica nel sistema nervoso centrale, con la microglia che gioca un ruolo centrale, è di elevata complessità e comprende la segnalazione verso le cellule endoteliali e altri leucociti da parte delle citochine. La melatonina interferisce con questi processi in molteplici vie e passaggi di segnalazione. Oltre alla trasduzione canonica del segnale da parte dei recettori della melatonina MT1 e MT2, la segnalazione secondaria e terziaria è rilevante e deve essere considerata, ad esempio, attraverso la sovraregolazione delle sirtuine e la modulazione dei microRNA pro- e anti-infiammatori [46].

È stato riscontrato che la MT sintetizzata nel cervelletto interagisce con i propri recettori nella stessa regione in cui viene sintetizzata e svolge un ruolo protettivo in caso di stress ossidativo batterico causato dai lipopolisaccaridi [47,48]. Le proprietà antinfiammatorie e antiossidanti della MT sono

importanti per la protezione dei neuroni dai danni durante l'ipossia o dall'impatto delle tossine e di altri fattori avversi. Gli astrociti, che rappresentano il 70% delle cellule cerebrali e svolgono molteplici funzioni importanti nel sistema nervoso centrale, rappresentano anche una fonte locale di MT senza cambiamenti circadiani [49]. MT stimola la dendritogenesi [50], modula l'organizzazione del citoscheletro nelle cellule dell'ippocampo [51] e promuove la neurogenesi endogena del cervello attraverso i recettori MT2 [52].

La retina si trova in una posizione di sintesi dove la MT svolge numerose funzioni regolatorie [53]. L'epitelio pigmentato retinico svolge la funzione omeostatica locale [54]. MT esercita effetti mediati e non mediati dai recettori sulla retina. I recettori MT sono stati identificati in più tessuti oculari, inclusi il neurone retinico e l'epitelio pigmentato, il ciliare, la cornea, la sclera e il cristallino [55]. Una mancanza di sintesi locale di MT nella retina gioca un certo ruolo nella patogenesi di alcune malattie dell'occhio, tra cui cheratopatia, degenerazione maculare e patologie causate dalla luce/radiazione ultravioletta. La MT può proteggere i fotorecettori dallo stress fotoossidativo e contrastare il danno cellulare ischemico [56]. I ricercatori hanno anche notato la capacità del cristallino di sintetizzare MT [57].

### **3.2. Melatonina nel sistema immunitario**

Il timo, i mastociti, le cellule natural killer, i leucociti eosinofili, i trombociti e le cellule endoteliali contengono MT in varie concentrazioni [58,59]. La sintesi di MT nel timo e la crescita compensatoria della sua produzione si osservano in assenza di una fonte epifisaria di indolo [60]. La MT endogena insieme alla MT pineale e ad altri agenti ormonali e non ormonali modula e regola la funzione del timo e l'omeostasi [61]. Aumenta la produzione di alcuni peptidi timici [62] e previene l'apoptosi nel timo [63]. L'esistenza di recettori MT nel timo conferma questa correlazione [64]. Differenti localizzazioni di MT nelle sottopopolazioni di timociti [65], ciascuna con una produzione definita di citochine e peptidi [66], nonché un certo livello di proliferazione, spiegano sia le proprietà proliferative che antiproliferative di MT [67] nel timo. Anche il midollo osseo è un tessuto con un contenuto sostanzialmente aumentato di MT [2]. Mentre la MT pineale esercita un'azione endocrina raggiungendo le cellule bersaglio del timo attraverso il flusso sanguigno, la MT extrapineale svolge un ruolo chiave come sostanza intracrina, autocrina e paracrina nel tessuto in cui viene sintetizzata [68]. La melatonina ripristina le funzioni dei neutrofili e previene l'apoptosi in mezzo a un sistema redox del glutatione disfunzionale [69]. È noto che nel processo di risposta immunitaria, i leucociti attivati (macrofagi, linfociti, neutrofili, mastociti) producono MT la cui concentrazione è 100-1000 volte superiore al suo livello nel flusso sanguigno, contribuendo così al controllo della proliferazione batterica, fagocitosi e ripristino della regione danneggiata [1,70,71]. Molteplici azioni della MT linfocitaria, inclusa la regolazione intra, auto e paracrina di IL-2 e/o IL-2R, sono state confermate da dati sperimentali [58]. Tutti questi tipi di cellule esprimono recettori MT che mediano alcuni dei suoi effetti paracrini e autocrini. Nella maggior parte delle cellule immunocompetenti, la MT o uno dei suoi metaboliti esercita effetti antinfiammatori e antiossidanti, fornendo un meccanismo difensivo che consente di evitare danni ai tessuti e l'insorgenza di malattie infiammatorie croniche. La melatonina ha una potente attività immunomodulante [72]. Regola l'espressione dei geni delle citochine, riducendo il legame di NF-κB al DNA e quindi riducendo la produzione di citochine pro-infiammatorie [73]. L'effetto antinfiammatorio della melatonina è

associato anche ad un aumento della produzione di interleuchina (IL)-4. Sopprimendo l'espressione del gene dell'ossido nitrico sintetasi inducibile (iNOS), della cicloossigenasi, nonché della proteina lipasi A2, della lipossigenasi e dell'attività delle citochine, la melatonina previene lo sviluppo di infiammazione sistemica [74]. La melatonina ripristina l'attività delle cellule T-helper e dell'interleuchina -2 (IL-2), che svolge un ruolo fondamentale nella regolazione dell'equilibrio immunitario.

Il ritmo della melatonina può influenzare il sistema neuroendocrino e modulare la naturale reattività immunitaria, che insieme al sistema fagocitico costituisce la prima linea di difesa immunologica. La melatonina partecipa alla determinazione della soglia di sensibilità per l'attivazione immunitaria specifica. Un ritmo robusto della melatonina potrebbe quindi prevenire eventi infettivi insieme alla proliferazione maligna. Ciò comporterebbe una diminuzione della frequenza di attivazione specifica e acuta del sistema immunitario, che viene percepito come un evento di stress a causa dei suoi correlati neuroendocrini, e documenta l'esistenza di un importante legame fisiologico tra il sistema neuroendocrino e il sistema immunitario. [75].

La tabella 1 mostra esempi di geni bersaglio/vie di segnalazione che implementano gli effetti della MT in un organismo vivente.

### **3.3. Melatonina nel tratto gastrointestinale**

Nel tratto gastrointestinale, la MT è stata trovata per la prima volta nelle cellule enterocromaffini dell'appendice vermiforme umana [79]. Data l'ampia superficie totale del tratto gastrointestinale e le concentrazioni relativamente elevate di MT per grammo di tessuto, è stato calcolato che la quantità di MT prodotta è 400-500 volte superiore a quella della ghiandola pineale [80-83]. La produzione di MT non è circadiana ma governata dall'assunzione di cibo [84,85]. Gli effetti della MT all'interno del tratto gastrointestinale sono mediati dai recettori di membrana MT1 e MT2. Oltre ai recettori di membrana, la MT può legarsi anche ad alcuni recettori nucleari, tra cui RZR/ROR $\gamma$  [86]. Per il momento, i recettori MT1 e MT2 sono stati identificati nella membrana mitocondriale delle cellule endoteliali gastriche. I ricercatori hanno ipotizzato che alcuni effetti fisiologici della MT sul tratto gastrointestinale (ad esempio l'angiogenesi) potrebbero essere mediati dai suoi recettori mitocondriali, non di membrana [87]. Essendo una molecola anfifilica (possiede una idrofila e una parte idrofoba), la MT penetra nelle membrane biologiche e raggiunge i suoi obiettivi all'interno e all'esterno delle cellule. L'esistenza di trasportatori specifici nelle membrane cellulari e mitocondriali [88] facilita il trasporto di MT contro il gradiente della sua concentrazione. La presenza di MT all'interno e all'esterno delle cellule e di una varietà di recettori determina i suoi effetti fisiologici e farmacologici pleiotropici nel tratto gastrointestinale [89]. La MT prodotta dalle cellule enterocromaffini della mucosa gastrointestinale viene rilasciata nei vasi sanguigni o, attraverso la diffusione, raggiunge gli strati esterni della muscolatura liscia, dove agisce come antagonista degli effetti contrattili della serotonina, provocando rilassamento [90]. Regola il trasporto transmembrana di elettroliti e ioni, il contenuto di acqua nell'intestino e l'attività mitotica [91].

In risposta agli stimoli neuronali, le cellule enterocromaffini del duodeno prossimale scaricano MT, che si lega ai recettori MT2 provocando il rilascio di calcio e la secrezione di ioni bicarbonato dalle

cellule del rivestimento adiacenti, che neutralizzano il contenuto di acido nello stomaco quando viene rilasciato nel duodeno [92,93]. La MT svolge un ruolo importante nella regolazione neuroumorale della barriera della mucosa duodenale tramite un recettore nicotinico [94], nonché nell'ottimizzazione della funzione enzimatica nel tratto gastrointestinale e nel contenuto del microbiota [95].

La MT è sintetizzata negli epatociti, dove la sua distribuzione subcellulare si è rivelata maggiore rispetto a quella del siero. L'indolo viene metabolizzato nel fegato ed espulso con la bile. Grazie alle sue proprietà antiossidanti e antinfiammatorie, l'MT protegge la cistifellea e l'epitelio intestinale indotto dagli acidi biliari, dall'ossisterolo o da altri prodotti del metabolismo durante la digestione. Il contenuto intracellulare di MT nel fegato cambia durante il giorno e non è associato a cambiamenti nei livelli di MT nel siero del sangue o nell'assunzione di cibo [9].

Come in altri organi, la MT non solo elimina un'ampia gamma di specie reattive dell'ossigeno, ma ottimizza anche la regolazione di vari enzimi antiossidanti e svolge la funzione antinfiammatoria nel tratto gastrointestinale [58], compresa la soppressione della sintesi delle prostaglandine e delle molecole di adesione, inibizione della migrazione dei leucociti ed espressione della cicloossigenasi-2 e delle citochine antinfiammatorie [96]. La MT può ripristinare l'equilibrio del microbiota intestinale, promuovendo la crescita dei batterioidi che sono batteri benefici nel tratto gastrointestinale [97]. La MT gastrointestinale, legandosi ai recettori di membrana e/o alle sue molecole di segnalazione intracellulari ed extracellulari durante l'attività fisiologica, partecipa alla regolazione della motilità, della produzione di acido cloridrico, della proliferazione cellulare, dell'equilibrio del microbiota, della sintesi delle prostaglandine, media le cellule immunitarie della mucosa, il metabolismo microbico e crosstalk (diafonia) ritmica [15,98,99]. Protegge i tessuti gastrointestinali dai danni causati dallo stress ossidativo e dall'infiammazione.

### **3.4. Melatonina in altri organi viscerali**

Nel cuore sono state identificate la presenza e l'espressione dei geni che codificano per l'arilalchilammina N-acetiltransferasi (AANAT) e l'acetilserotonina metiltransferasi (ASMT), gli enzimi che controllano la sintesi della melatonina. La produzione locale di MT è stata osservata nei cardiomiociti, dove non è controllata fotoperiodicamente ma cambia durante il giorno. È stato notato che il contenuto di MT mitocondriale nel cuore nell'arco delle 24 ore è significativamente più alto che nel cervello, il che potrebbe essere la prova di una correlazione tra l'attività dei mitocondri e il contenuto di MT. È stato sostenuto che i cambiamenti nei livelli di MT in vari organelli nell'arco di 24 ore potrebbero essere dovuti al suo utilizzo (ad esempio, come scavenger di radicali) in combinazione con piccole fluttuazioni della sintesi, ma non a cambiamenti nella sola sintesi [100]. I recettori MT1 e MT2 sono presenti nei cardiomiociti umani, nelle arterie e nelle arterie del ventricolo sinistro [93]. La melatonina può ridurre la generazione di ROS (specie reattive dell'ossigeno), preservare la stabilità mitocondriale, ripristinare una robusta funzione mitocondriale per la produzione continua di ATP nei tessuti cardiaci, proteggere dall'autofagia e dall'apoptosi nei cardiomiociti attraverso la regolazione della proteina di disaccoppiamento mitocondriale 2 (UCP2). Tuttavia, il meccanismo protettivo della melatonina va ben oltre questa azione, coinvolgendo diversi ruoli nel sistema nervoso, nel rimodellamento del miocardio e nelle proprietà antiossidanti; tutti fattori generalmente coinvolti nelle sue azioni mediate dai recettori legate alle proprietà

antiaritmiche [101]. La melatonina svolge un ruolo fondamentale nel mantenimento dell'omeostasi del calcio nei cardiomiociti. Sulla base di questi meccanismi e delle loro implicazioni per il processo di invecchiamento, la melatonina è considerata un elemento anti-età chiave attraverso diversi percorsi [102]. È noto che la melatonina svolge un ruolo speciale nello sviluppo funzionale del sistema cardiovascolare fetale. Nelle fasi iniziali regola l'espressione dei geni orologio (*bmal1* e *per2*) nel cuore fetale. Al momento della nascita garantisce il funzionamento ottimale del sistema cardiovascolare sincronizzando gli oscillatori circadiani nel cuore, nei vasi e nei centri cerebrali di coordinamento. Questo effetto sincronizzante della melatonina dipende dalla densità dei suoi recettori in varie strutture che controllano il volume e la resistenza vascolare [103].

La MT è sintetizzata nella pelle, dove partecipa alla regolazione della crescita e della pigmentazione dei capelli e inibisce la proliferazione delle cellule del melanoma [104]. L'attività antiossidante della MT protegge dalle radiazioni ultraviolette e dai raggi X, dalle ustioni e da altri impatti che possono causare danni alla pelle. Nella pelle per uso proprio viene prodotta una quantità di MT molto maggiore di quella che si trova nel siero del sangue [105].

La MT svolge un ruolo chiave nella fisiologia della riproduzione regolando la produzione di prolattina, ormoni follicolo-stimolanti e luteinizzanti [1]. La sintesi di MT nelle ovaie e nei testicoli riflette la regolazione auto e paracrina della fisiologia riproduttiva, garantendo ovuli e spermatozoi di alta qualità [106,107]. L'indolo è prodotto nelle cellule dell'epitelio, dello stroma, del miometrio e partecipa al mantenimento dell'omeostasi dell'organo regolando molteplici percorsi legati ai processi di decidualizzazione e impianto [108]. Anche i recettori MT1 e MT2 svolgono un ruolo importante nella riproduzione poiché MT regola l'attivazione di p38, ottimizzando la vitalità dell'impianto dell'embrione [109]. Nelle donne, la MT sintetizzata dalle cellule follicolari partecipa all'ovulazione e all'omeostasi del tessuto placentare [110].

La MT extrapineale nell'ovaio fornisce la regolazione ormonale locale e migliora il potenziale di sviluppo dell'ovocita grazie ai suoi effetti antinfiammatori e antiossidanti, mediati da una significativa diminuzione dei livelli di ossido nitrico sintetasi inducibile e di ossido di azoto (NO) nelle cellule luteinizzate e da un aumento dei livelli di mRNA per il fattore di trascrizione antiossidante [111,112]. È stato dimostrato che la concentrazione di MT nel liquido preovulatorio follicolare è circa tre volte superiore a quella nel siero del sangue [113], simile a quella durante la gravidanza [114].

La MT viene sintetizzata anche nell'embrione, mantenendo il normale stato di metilazione del DNA inducendo l'espressione e la sintesi della proteina TET2, che trasforma la metilcitosina (la base metilata del DNA) in 5-idrossimetilcitosina e promuove lo sviluppo dell'embrione [115].

L'effetto positivo della MT, osservato nella maggior parte degli studi, sullo sviluppo preimpianto e sull'impianto dell'embrione potrebbe essere spiegato dalle sue proprietà antiossidanti, che le consentono di compensare uno dei fattori più dannosi per gli ovociti e l'embrione, vale a dire l'iperproduzione di ROS (specie reattive dell'ossigeno). Inoltre, attraverso i recettori MT1 e MT2 situati sulle membrane dell'endometrio, dell'ovocita e della blastocisti, la MT può attivare cascate di segnalazione, che portano ad un aumento della sintesi di fattori che promuovono l'impianto e inibiscono i fattori che lo impediscono [116,117].

È stato dimostrato che gli enzimi che generano MT (AANAT e ASMT) vengono prodotti durante

tutta la gravidanza, con un'espressione ottimale nel terzo trimestre [118]. Già nel primo trimestre di gravidanza, i trofoblasti placentari non solo sintetizzano MT ma esprimono anche i suoi classici recettori transmembrana MT1 e MT2 [119,120], il che indica la capacità dei MT sintetizzati localmente di esercitare effetti paracrini, autocrini e/o intracrini nel placentone [121]. Le cellule del citotrofoblasto e del sinciziotrofoblasto non solo contengono recettori di membrana MT1 e MT2, ma sintetizzano anche MT [122]. La MT prodotta nelle cellule del citotrofoblasto e del sinciziotrofoblasto, nelle membrane dei capillari sinciziali, nei reni sinciziali e nei nodi nelle cellule stromali e nell'endotelio vascolare è uno scavenger diretto di radicali liberi, stimolando l'attività dell'enzima antiossidante e regolando il processo di differenziazione e apoptosi delle cellule del citotrofoblasto [118,123,124]. Preserva l'equilibrio delle cellule del citotrofoblasto e del sinciziotrofoblasto, mantenendo così l'omeostasi placentare [120].

La placenta, come parte del sistema neuroimmunoendocrino diffuso, svolge un ruolo estremamente importante nella regolazione dei rapporti tra madre e feto, implementando il programma ontogenetico di crescita e sviluppo del feto producendo ormoni peptidici classici, ammine biogene, proteine messaggere, molecole segnale intra e intercellulari [125,126]. Come sappiamo, è la MT e il suo ritmo di secrezione circadiano a garantire il successo dello sviluppo placentare in salute [122,127]. Pertanto, la MT e i suoi metaboliti agiscono come spazzini diretti dei radicali liberi formati durante la gravidanza, stimolando gli enzimi antiossidanti, fornendo così una protezione stabile contro i danni dei radicali liberi a livello cellulare e tissutale all'interno del sistema madre-placenta-feto [118,128,129]. A causa della sua capacità di sopprimere l'espressione dei geni inducibili della NO-sintasi e della cicloossigenasi, la MT limita la produzione di molecole proinfiammatorie (prostanoidi, leucotrieni, citochine, ecc.), fornendo così una protezione antiinfiammatoria [130]. Come immunomodulatore e regolatore dell'omeostasi vascolare-piastrinica, la MT è coinvolta nell'impianto, nella placentazione, nello sviluppo morfologico e funzionale della placenta e nella preservazione della sua funzione neuroimmune-endocrina finalizzata alla formazione e coinvolgimento dei sistemi funzionali vitali del feto [24]. La MT è presente anche nel liquido amniotico [131].

La MT placentare passa nel flusso sanguigno materno al più tardi nel terzo trimestre, e aumenta sostanzialmente il suo livello vicino al termine della gravidanza [108]. Dal momento della fecondazione e dell'ovoiimpianto, la MT materna partecipa ai meccanismi di regolazione della funzione di produzione ormonale della placenta e all'inizio del suo ritmo circadiano, controllando l'espressione genica (Bmal1, Perl3, Cry1-2, Clock, VEGE) [124]. Raggiungendo facilmente il feto, svolge un ruolo chiave nel suo sviluppo morfologico e funzionale e nella formazione dei ritmi circadiani [128,132,133].

Le prime cellule endocrine compaiono nel retto e nel colon del feto nella 6a-9a settimana di sviluppo prenatale [134]. Successivamente il loro numero aumenta progressivamente e la massima distribuzione di frequenza si osserva nell'appendice vermiforme durante lo sviluppo intrauterino del feto. Ciò indica un ruolo significativo del sistema endocrino intestinale, in particolare il ruolo della MT nella regolazione dei meccanismi dell'istogenesi dell'embrione e dello sviluppo funzionale del tratto gastrointestinale [135]. I recettori MT si trovano nei tessuti fetali centrali e periferici nelle prime fasi dello sviluppo intrauterino [136,137]. La MT materna sincronizza gli oscillatori

circadiani periferici in questi organi e coordina la loro funzione con i ritmi dei geni orologio dei nuclei soprachiasmatici e di altri tessuti, tra cui l'ipofisi e la ghiandola surrenale [5,138].

Durante la vita prenatale, il nucleo soprachiasmatico e gli organi fetali sono oscillatori circadiani la cui attività ritmica è innescata e dipende dallo stato di organizzazione circadiana delle attività vitali nella madre e dai suoi messaggeri primari dei bioritmi generati dal nucleo soprachiasmatico, cioè dalla MT. Ciò garantisce l'integrazione dei bioritmi endogeni dei sistemi funzionali del bambino nel sistema circadiano dell'adulto, che è regolato dal suo nucleo soprachiasmatico in dipendenza dai cambiamenti circadiani nell'illuminazione ambientale [139]. L'ulteriore maturazione del driver del ritmo centrale continua dopo la nascita del bambino, e la MT prodotta dalle cellule mononucleate, dai fagociti polimorfonucleati, dalle cellule endoteliali nelle ghiandole mammarie e trasmessa con il latte contribuisce anche al supporto e allo sviluppo dei geni dell'orologio nei neuroni della corteccia cerebrale e in altre regioni del sistema nervoso centrale [140].

Pertanto, nell'ontogenesi prenatale, la MT extrapineale è la molecola chiave che dirige e coordina il processo genetico dello sviluppo morfologico e funzionale del feto, che è cruciale per il successo dell'adattamento postnatale a un nuovo ambiente e una vita sana nei mesi e negli anni successivi (Figura 3).

#### 4. Melatonina e mitocondri

I mitocondri, presenti in tutte le cellule del corpo (eccetto gli eritrociti), svolgono il ruolo chiave nel loro metabolismo, nell'omeostasi del calcio, nell'apoptosi e nella regolazione di molteplici processi fisiologici e patologici [141]. Sono responsabili della produzione di energia (ATP) che risulta dal metabolismo del glucosio (glicolisi) e dalla respirazione cellulare (fosforilazione ossidativa) nella membrana mitocondriale interna. La glicolisi nel citosol cellulare genera piruvato, che viene trasportato attivamente nella matrice mitocondriale dove viene metabolizzato in acetil-coenzima A (acetil-CoA) sotto l'azione dell'enzima complesso piruvato deidrogenasi (PDC). L'acetil-CoA fornisce un contributo importante al ciclo dell'acido tricarbonico e quindi accoppia la glicolisi alla produzione di ATP [142,143].

L'acetil-CoA è anche un importante cofattore dell'arilalchilammina N-acetiltransferasi (AANAT) che converte la serotonina in N-acetilserotonina, un precursore della MT [144]. Essendo responsabili della fornitura di energia alle cellule mediante fosforilazione ossidativa, i mitocondri sono il luogo principale per la generazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS - specie reattive dell'ossigeno), sottoprodotti della fosforilazione ossidativa che partecipano alla regolazione dell'omeostasi cellulare di ossido-riduzione.

La presenza dell'ossido nitrico sintasi (mtNOS) nei mitocondri indica la produzione di ossido nitrico (NO) e perossinitrito (ONOO<sup>-</sup>), che vengono prodotti in questi organelli in caso di infiammazione [145]. Oltre all'ATP, i mitocondri producono anche precursori per la sintesi di macromolecole come DNA/RNA, proteine e lipidi [73]. Inoltre, partecipano al mantenimento dell'omeostasi cellulare del Ca<sup>2+</sup> [146]. Inoltre, i mitocondri regolano l'apoptosi cellulare rilasciando fattori apoptotici (citocromo C) e attivando le caspasi [10,141] (Figura 4).

La neutralizzazione dello stress ossidativo e la riprogrammazione del metabolismo alterato nelle cellule sono fornite dalla MT sintetizzata nei mitocondri dove la sua distribuzione è molto più elevata rispetto ad altri organelli subcellulari e non ha un ritmo circadiano [9,76]. È stato scoperto che la MT viene rilasciata dai mitocondri e quindi, attraverso il recettore MT1 sulla membrana, controlla la secrezione del citocromo C. È stato dimostrato che la densità dei recettori MT1 e MT2 è molto elevata sulle membrane mitocondriali delle cellule endoteliali gastriche [82].

La MT è presente nelle membrane mitocondriali e passa nei mitocondri con l'aiuto dei trasportatori oligopeptidici PEPT1 e PEPT2 situati sulla membrana [147]. L'esistenza della MT nei mitocondri come risultato del suo assorbimento e della sintesi de novo fornisce alcuni benefici funzionali a questi organelli e alle cellule in generale [148]. Alte concentrazioni di MT e le sue molteplici azioni come antiossidante forniscono una potente protezione a questi organelli esposti all'impatto dei radicali liberi [130]. All'interno dei mitocondri, la MT agisce come uno spazzino diretto dei radicali liberi e dei relativi prodotti non radicali e stimola gli enzimi antiossidanti, tra cui la superossido dismutasi 2 (SOD2), la catalasi e la glutatione reduttasi, sopprimendo gli enzimi pro-ossidanti [149-152]. Ciascuno di questi enzimi partecipa al mantenimento dell'omeostasi di ossido-riduzione dei mitocondri, agendo come buoni spazzini delle specie reattive dell'ossigeno e dell'azoto [2,153-155].

La MT può sopprimere l'ossido nitrico sintetasi, responsabile della formazione di ossido nitrico, e la lipossigenasi promuove la formazione di anione superossido [156]. Regolando l'attività della lipossigenasi, la MT protegge le cellule dall'idroperossidazione degli acidi grassi polinsaturi [157]. Modula le reazioni del reticolo endoplasmatico allo stress [158], all'attività delle sirtuine [159], ai processi di mitofagia e autofagia [160].

La MT esercita un effetto significativo sulla funzione mitocondriale in virtù della sua capacità di aumentare l'efficienza della catena di trasporto degli elettroni e di migliorare la produzione di ATP [106]. Tale miglioramento della funzione mitocondriale e della sintesi di ATP aumenta la velocità di trasporto degli elettroni e riduce la produzione di ROS (specie reattive dell'ossigeno), evitando una diminuzione dannosa del potenziale della membrana mitocondriale. In determinate circostanze, la MT riduce il consumo di ossigeno da parte dei mitocondri, il che potrebbe proteggere questi organelli dall'eccessivo stress ossidativo e prevenire la degradazione ossidativa del DNA mitocondriale [155]. La perdita di un potente antiossidante mitocondriale come la MT può avere gravi conseguenze in termini di aumento dello stress ossidativo e ridotta produzione di ATP seguita da un aumento della formazione di radicali liberi [130,161]. Questi cambiamenti hanno conseguenze disastrose per la fisiologia mitocondriale e cellulare e sono comuni nelle malattie mitocondriali [162].

Pertanto, la MT, attraverso l'eliminazione diretta dei ROS (specie reattive dell'ossigeno) nei mitocondri, l'attivazione della protezione antiossidante e la preservazione dell'integrità della membrana, svolge un ruolo cruciale nel mantenimento delle normali funzioni mitocondriali e dello scambio energetico nelle cellule. Ulteriori ricerche sugli effetti della MT sulle funzioni mitocondriali in vari tessuti e organi sani e patologici, così come studi sui farmaci MT mirati ai mitocondri, ci aiuteranno a comprendere meglio i meccanismi della sua azione protettiva e il suo utilizzo per il trattamento di numerose patologie.

## 5. La melatonina come marcatore neuroimmunoendocrino e bersaglio molecolare per malattie socialmente significative

Gli studi sui meccanismi che controllano le attività vitali a livello subcellulare, cellulare e tissutale e le interazioni dei sistemi funzionali in varie condizioni ambientali hanno determinato il ruolo chiave della diminuzione della produzione di MT, principalmente MT pineale, nei processi di invecchiamento, crescita tumorale, malattie degenerative legate all'età e stati patologici come obesità, diabete mellito, sindrome metabolica, ipertensione, disturbi del tratto gastrointestinale, ecc. [73]. Il principale fattore che promuove il loro sviluppo è lo stress ossidativo che causa danni alle macromolecole cellulari (incluso DNA, proteine) e ai lipidi, come risultato della disfunzione mitocondriale dovuta alla deplezione di MT in quegli organelli. L'interruzione dei processi antiossidanti di trasferimento di elettroni all'interno della cellula e della fosforilazione ossidativa, la perossidazione dei fosfolipidi della membrana mitocondriale, i cambiamenti nella fluidità e permeabilità della membrana sono processi che determinano la disfunzione mitocondriale con l'invecchiamento e può essere la ragione principale di un'ampia gamma di condizioni patologiche [4].

Numerosi studi nel campo della neurologia, endocrinologia, cardiologia, oncologia, medicina riproduttiva e perinatale hanno dimostrato il ruolo chiave della MT nella protezione dei tessuti dai danni attraverso effetti benefici sulla fosforilazione ossidativa dei mitocondri, attività antiossidante e dei radicali liberi, attraverso effetti immunomodulatori e anti-apoptotici, nonché il mantenimento dell'omeostasi cronobiologica [103,163–167]. Il trattamento con MT dell'ischemia cerebrale aumenta la sopravvivenza e riduce la neurodegenerazione e la perdita di neuroni postischemici, fornendo prove del potenziale della MT come protettore dei neuroni sia negli adulti che nei bambini [152,168].

A causa del coinvolgimento della MT nella regolazione dei processi infiammatori, nel metabolismo del carbonio e dei lipidi, la sua applicazione è efficace per il trattamento profilattico dell'aterosclerosi, del danno ischemico cerebrale, delle malattie cerebrovascolari, ecc. [169-171]. La MT ha avuto un effetto benefico sulla riduzione della produzione di ROS (specie reattive dell'ossigeno) e sulla protezione delle cellule beta pancreatiche nei pazienti con diabete mellito [172]. È stato dimostrato che la MT esercita effetti antitumorali associati alla regolazione della funzione mitocondriale. La MT fornisce un meccanismo protettivo fondamentale grazie alla sua capacità di modificare il metabolismo nelle cellule tumorali, che provoca un aumento dell'apoptosi, inibendo così la loro crescita nel cancro del polmone, nella ghiandola mammaria e nei tumori del colon, e le loro metastasi [173].

L'invecchiamento è un fattore di rischio primario per le malattie neurodegenerative (compromissione cognitiva di moderata gravità, morbo di Alzheimer, morbo di Parkinson e altre forme di demenza che progrediscono in connessione con una bassa secrezione di MT) [173-175]. Nei modelli sperimentali di Alzheimer e di Parkinson, la neurodegenerazione osservata è stata parzialmente prevenuta dalla MT [176]. Studi clinici hanno anche dimostrato l'efficacia della MT nel migliorare i disturbi cognitivi e nel ridurre sintomi specifici come il pensiero disorganizzato, l'eccitazione, la labilità emotiva e il deficit di attenzione [177]. Il processo di neurodegenerazione nella malattia di Parkinson è associato a neuroinfiammazione, attivazione della microglia e

infiltrazione linfocitaria. Regolando l'attività degli enzimi antiossidanti, del complesso-I mitocondriale e del glutatione (GSH), la MT ha ridotto lo stress ossidativo nel modello sperimentale della malattia di Parkinson [178] e la somministrazione di MT ai pazienti ha rallentato la neurodegenerazione e migliorato la qualità del sonno [ 179.180].

## **6. Conclusioni**

In conclusione, la MT è coinvolta nel mantenimento dell'omeostasi nei vari tessuti degli organi e nella protezione della loro attività funzionale in caso di esposizione a condizioni ambientali sfavorevoli.

Un'ampia gamma di funzioni svolte dalla MT extrapineale, le sue azioni endocrine, paracrine e autocrine per proteggere i tessuti dai danni sono determinate dalla sua sintesi nei mitocondri e dalla regolazione dell'omeostasi di ossido-riduzione nelle cellule. La realizzazione delle proprietà antiossidanti e antinfiammatorie della MT richiede la sua elevata concentrazione nei tessuti rispetto al suo livello nel siero del sangue. L'interruzione di questi processi porta alla disfunzione mitocondriale e allo sviluppo di varie condizioni fisiopatologiche (cancro, infiammazione, fibrosi, morbo di Alzheimer, ecc.).

I risultati di studi sperimentali e clinici indicano l'importanza di una diagnosi tempestiva delle alterazioni della produzione di MT pineale ed extrapineale, che può agire come marcatore neuroimmunoendocrino di varie malattie [6].

Inoltre, dato che la MT è ampiamente distribuita in vari organi e tessuti ed è coinvolta nei meccanismi molecolari di vari processi patologici, può anche essere considerata come un possibile bersaglio nella scelta della terapia personalizzata per ottimizzare il trattamento di patologie socialmente significative.

Ulteriori ricerche sulla MT possono anche contribuire allo sviluppo di nuovi approcci al suo utilizzo per la prevenzione e il trattamento delle patologie legate all'età.