

LA MELATONINA

La melatonina rappresenta una delle sostanze che più sta appassionando sia l'opinione pubblica sia il mondo scientifico. Si sono attribuite ad essa molte funzioni e su di essa si sono create spesso molte distorsioni facendola apparire quasi come una panacea come avvenuto per altre sostanze. È forse questo un modo per dire, alla fine, che non serve a nulla?

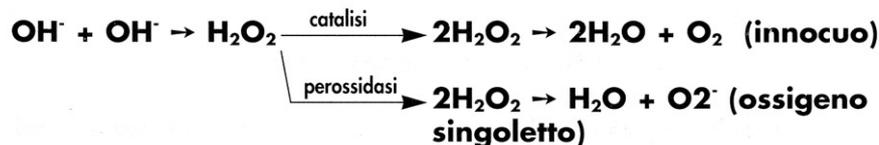
Questa volta credo che un'affermazione di questo tipo sarà difficile da sostenere in quanto molte sono state le ricerche per meglio comprenderne l'origine, la struttura, l'efficacia fisiologica e l'efficacia in caso di apporto, sia esso nutrizionale sia esso farmaceutico. Prima di iniziare a parlare tecnicamente di questa sostanza ritengo sia utile sintetizzare il concetto di radicale libero, concetto imprescindibile per la comprensione di grossa parte delle funzioni della melatonina.

RADICALI LIBERI

GENERALITA'

Radicale libero è un atomo che possiede un elettrone spaiato sull'orbita più esterna.

EFFETTI DELLE RADIAZIONI IONIZZANTI SULLE MOLECOLE DI ACQUA DEL PROTOPLASMA CELLULARE

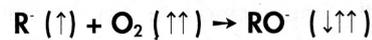


L'ossigeno molecolare (O₂) possiede due elettroni spaiati sull'ultima orbita a pari livello energetico che ruotano nella medesima direzione (hanno quindi uno spin parallelo) e con analogo velocità. Biochimicamente quindi l'ossigeno molecolare è un doppio radicale libero ma, per la "restrizione dello spin", è molto poco reattivo.

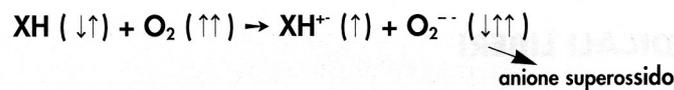


Per rendere dunque reattivo l'ossigeno molecolare dobbiamo superare la restrizione dello spin ovvero dobbiamo invertire lo spin di un elettrone. Questo è possibile attraverso diversi tipi di reazioni biochimiche:

- 1) reazione con un altro radicale libero R



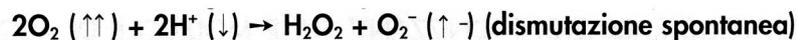
- 2) reazione con sostanze riducenti XH



- 3) eccitazione ad ossigeno singoletto

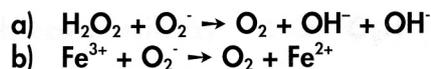


- 4) attivazione biologica dell'ossigeno molecolare ad anione superossido

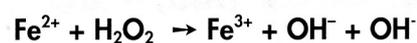


dismutazione enzimatica: superossido dismutasi

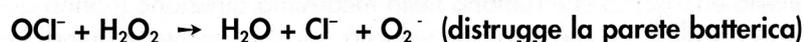
- 5) reazione di Haber Weiss



- 6) reazione di Fenton



- 7) sistema delle mieloperossidasi (enzima presente nei macrofagi e nei granulociti)

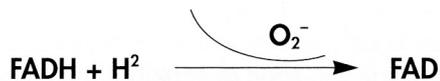


I siti intracellulari dove vengono sintetizzati i radicali liberi dell'ossigeno sono: il reticolo endoplasmatico liscio (sistema microsomiale), i perossisomi, la plasmamembrana ed i mitocondri.

Anione super-ossido ($O_2^- = O_2 + e^-$)

Fisicamente sulle orbite più esterne ci sono tre elettroni: due con spin antiparallelo ($\uparrow\downarrow$) ed uno isolato (\uparrow). E' quindi un monoradicale libero capace di accettare ancora un elettrone da sostanze facilmente ossidabili in modo tale da raggiungere la stabilità fisico-chimica. L'anione superossido si forma in diverse reazioni biochimiche:

- ossidazione della flavina:



- nella catena respiratoria mitocondriale
- nella catena respiratoria microsomiale
- nelle reazioni catalizzate dalla xantina ossidasi.

Nella catena respiratoria mitocondriale si forma l'anione superossido che viene inattivato nella reazione di *dismutazione spontanea* ottenendo come prodotto finale l'acqua ossigenata prontamente scissa nella reazione catalizzata dalle catalasi dei perossisomi.

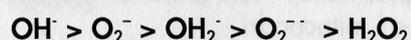
Radicale idrossile (OH \cdot)

È un metabolita reattivo che si forma durante la reazione di Haber-Weiss, la reazione di Fenton e nel meccanismo battericida che sfrutta la reazione con lo iodio:



Sono sorgenti di radicali liberi: le reazioni biochimiche che si realizzano nei fagociti, la via metabolica dell'acido arachidonico (la *ciclossigenasi* e la *lipossigenasi* formano il radicale idrossile), l'esposizione delle cellule alle radiazioni ionizzanti d'elevata intensità.

I radicali liberi dell'ossigeno hanno una diversa reattività nei confronti delle molecole:



Danni biologici dei radicali liberi:

- 1) alterazioni stabili nel patrimonio genetico (neoplasie maligne)
- 2) depolimerizzazione e denaturazione (morte cellulare)
- 3) inattivazione di enzimi che producono e distruggono le molecole
- 4) reazioni a catena che distruggono le componenti cellulari agendo sulle membrane.

Perossidazione lipidica: è una serie di reazioni biochimiche che sintetizzano una cascata di radicali liberi altamente reattivi. La reazione viene suddivisa in tre fasi: 1) inizio, 2) propagazione, 3) termine:

- 1) il doppio legame di due atomi di carbonio reagisce con il radicale libero il quale accettando un protone si riduce e contemporaneamente ossida il lipide nel quale uno dei due atomi di carbonio si radicalizza: *radicale alchilico* CH₃·;
- 2) in presenza di ossigeno si forma il *radicale perossile* RO₂· (↓↑↑) per interazione con il radicale alchilico; contemporaneamente anche l'idrogeno reagisce con l'ossigeno formando l'*idroperossido* OH₂ poco reattivo, che spontaneamente si radicalizza in radicale idrossile (OH·) responsabile della propagazione del danno lipidico;
- 3) nella fase terminale si riarrangiano i legami molecolari con formazione di: *dieni coniugati, gruppi carbossilici, idrocarburi volatili*.

L'allontanamento della malonil-dialdeide rompe la membrana citoplasmatica e di conseguenza induce la morte cellulare per rigonfiamento osmotico.

Come "primun movens" della patologia da radicali liberi si considerano sempre le radiazioni ionizzanti, ma anche il metabolismo di sostanze chimiche come gli *alcoalcani* (tetracloruro di carbonio, dibromometano, alotano, ecc.) possono creare radicali capaci di danneggiare diversi costituenti cellulari come proteine ed acidi nucleici, mediante l'interazione molecolare mediata da legami forti come quelli covalenti. Sono molte le sostanze chimiche dal cui metabolismo si formano agenti radicalici capaci di lipoperossidare le membrane intra-extracellulari: il paracetamolo, le idrazine, bromobenzen, metanolo, etanolo, chemioterapici, azocomposti, idrocarburi policiclici, ecc. Altre sostanze invece non sono tossiche, ma lo diventano dopo biotrasformazione a livello microsomiale. Nella catena respiratoria microsomiale infatti scorrono elettroni che ossidano i composti a monte per ridurre quelli a valle. La catena respiratoria microsomiale utilizza enzimi della famiglia dei citocromi p450.

Le patologie neoplastiche in fase iniziale sono caratterizzate dalla liberazione di grandi quantità di radicali liberi che influenzano la stessa cellula neoplastica per diretta interazione a livello nucleare con effetto mutageno. Anche l'invecchiamento può essere considerato un effetto del danno radicalico. Altre condizioni cliniche che possono essere correlate ad un danno radicalico sono: sindromi da iperossigenazione iperbarica, sindromi di ipossigenazione, intossicazione da sostanze chimiche, chemioterapia, stati flogistici.

Il danno radicalico si realizza allorché si crea uno squilibrio dei processi ossidativi (*stress ossidativo*):

$$\text{stress ossidativo} = \frac{\text{fattori pro-ossidanti}}{\text{fattori anti-ossidanti}}$$

Molti composti chimici si comportano come “scavenger” intracellulari ovvero sostanze con funzione antiradicalica. Per poter agire devono essere somministrati prima della condizione a cui segue un danno radicalico. Di solito tali sostanze agiscono meglio quando la tensione di ossigeno è alta. Il meccanismo d’azione si basa sulla capacità di fornire al radicale un gruppo sulfidrilico (-SH) da cui prendere un elettrone. Sono scavenger intracellulari: la vitamina A, la vitamina E, la superossidodismutasi, la catalasi, la vitamina C ed il glutatione.

La **melatonina** è una sostanza ampiamente diffusa in natura, appartiene sia al mondo animale che al mondo vegetale. Ritenerne che la melatonina sia un ormone nasce solo quale conseguenza delle modalità della sua scoperta. Per lungo tempo si è ritenuto che la melatonina fosse sintetizzata solamente dalla ghiandola pineale, oggi si sa invece che la melatonina nell’organismo umano è sintetizzata anche dalla retina, dai megacariociti, dalle piastrine, dalle ghiandole di Harder, ma soprattutto dall’intestino tenue. Non vi sono né tropine né releasing factors tipici degli ormoni. Nel mondo animale ritroviamo la melatonina oltre che nei vertebrati anche in certi insetti. Nel mondo vegetale la troviamo in alcune alghe, nei pomodori, nelle banane, nel riso, nell’avena. Chimicamente la melatonina è:

N-acetil-5-metossi-triptamina

La melatonina presente nell’organismo è totalmente dipendente dalla dieta, infatti essa è introdotta come tale con gli alimenti oppure viene sintetizzata a partire da un aminoacido, il triptofano. Questa osservazione ha trovato conferma in quanto nell’uomo i livelli circolanti di melatonina diminuiscono mancando il fisiologico aumento notturno in corso di malnutrizione proteica, in digiuni prolungati o in nutrizioni proteiche prive di triptofano. Vi sono anche altre condizioni in cui si può giungere a carenze di melatonina come l’esposizione prolungata alla luce per inibizione degli enzimi n-acetiltransferasi ed idrossindol O metiltransferasi e per i processi d’invecchiamento. Si è visto che il sessantesimo anno d’età rappresenta il limite al di là del quale la melatonina riduce sensibilmente i suoi picchi notturni. Analogo riscontro si è fatto però in pazienti più giovani con patologie tipiche della senescenza intervenuta in età antecedente ai sessantanni. Questa osservazione ha fatto collocare la melatonina tra quelle sostanze che svolgono fisiologicamente un effetto antiradicalico nel corso della vita. I radicali liberi sono dei semplici frammenti molecolari che, essendo chimicamente instabili, cioè presentando un elettrone spaiato nella loro orbita più esterna, come si è già visto, sono spinti dalle leggi della fisica a catturare un elettrone da un’altra molecola o a trasferire il proprio. Gli elettroni sono le strutture con cui

viene tenuta assieme una molecola, per cui un radicale libero ha la capacità di modificare o anche distruggere la molecola che aggredisce.

A livello della cellula questa aggressione può distruggere le membrane cellulari, disattivare strutture enzimatiche, variare il codice genetico. Numerosi radicali liberi sono direttamente implicati per le nostre esigenze di sopravvivenza. L'ossigeno ad esempio utilizzato per produrre energia in parte esce da questi meccanismi sotto forma di radicale libero.

Anche il sistema immunitario è fonte di radicali liberi, esso infatti dovrebbe produrre queste sostanze per le specifiche aggressioni batterico-virali e tumorali, in realtà spesso per stimoli importanti amplifica la sua risposta generando un effetto radicalico solo in parte finalizzato, la parte eccedente causa i danni più disparati. Radicali liberi si producono anche attraverso l'esposizione ai raggi ultravioletti e per vari inquinanti ambientali. In questo scenario s'inserisce la melatonina la quale essendo solubile sia nei grassi che in acqua, circostanza assai rara in natura, consente di proteggere tutte le strutture cellulari dall'aggressione dei radicali liberi. Come la melatonina sia un potente antiossidante lo hanno dimostrato vari lavori, in uno di questi si è dimostrata la capacità d'inibire la comparsa di cancro del fegato, indotto dal safrolo, in alcuni ratti, in un altro quello d'impedire gli effetti da radiazioni sui globuli bianchi umani, esperimento questo che fra l'altro mise in evidenza come la melatonina fosse 500 volte più attiva dell'antiossidante sintetico DMSO, considerato un eccellente radioprotettore. A favore ancora del potente effetto antiradicalico della melatonina sta la sua capacità d'assolvere pienamente al principio che la protezione antiradicalica si deve offrire in modo rapido ed in situ. Le caratteristiche suddette di idro e lipo solubilità della melatonina lo garantiscono appieno. La melatonina è almeno due volte più efficace della vitamina C, idrosolubile e fototermodabile. Inoltre la melatonina non produce radicali liberi come, ad esempio, avviene per la vitamina C che, esposta al ferro ionico, come può avvenire nel nostro organismo a seguito di un traumatismo, di un'infezione, di un'esposizione al calore, può favorire la produzione di radicali liberi. Da queste considerazioni si evince l'importanza della fisiologica produzione di melatonina nel nostro organismo e quindi anche l'importanza della dieta che ne consente la produzione. Non disgiunto da questo rimane il fatto che integrare la melatonina nella dieta può essere utile se non indispensabile.

Qualche migliaio di persone ha assunto la melatonina nei vari studi clinici. Nessuno di essi (tranne qualche rara eccezione), benché i dosaggi fossero anche molto alti e protratti nel tempo, ha presentato effetti tossici. Malgrado questa considerazione l'assunzione di melatonina dovrebbe essere supportata da una giusta prudenza. Una donna che desidera concepire un figlio non deve assumere melatonina poiché in alcuni casi può impedire l'ovulazione, con l'allattamento una donna passa attraverso il latte piccole quantità di melatonina, se un paziente è affetto da malattia mentale può aggravarne i sintomi, nei pazienti allergici o con malattie autoimmuni può, stimolando l'immunità, determinare una risposta abnorme, ecc. In pochissime persone può provocare insonnia paradossa, incubi e sonno virtuale. Quest'ultimo effetto è stato notato quando la melatonina è abbinata a vitamina B6. Esistono prodotti a base di melatonina sintetica e di melatonina estratto pineale. Il primo è sicuramente più affidabile in termini di dosaggio reale e scevro da possibili contaminazioni derivanti dall'estrazione animale.

Esistono metodiche per la determinazione analitica della melatonina:

- dosaggio biologico basato sull'aggregazione del pigmento melatonina indotto nel melanoforo della pelle degli anfibi, procedura questa complessa e di bassa sensibilità
- dosaggio radio-immunologico RIA che però non presenta alta specificità a causa della scarsa riproducibilità e possibilità di reazioni crociate Lo step più critico è la sicura separazione del tracciante

- legato e non legato che si realizza mediante assorbimento della frazione libera su carbone, è stato introdotto per questo la SPA (Scintillation Proximity Assay) che non ha bisogno dello step di riparazione, essa è infatti basata sul principio che l'anticorpo primario è legato alla superficie di fluoromicrosfere inducendo l'immissione di luce che può essere quantizzata da un banale contatore
- dosaggio immuno-enzimatico EIA, metodo sufficientemente agevole
 - l'HPLC (High Performance Liquid Chromatography) cromatografia ad elevata prestazione, oggi uno dei metodi più efficaci per la determinazione della melatonina
 - la GC/MS (Gas Chromatography/Mass Spectroscopy) determinazione molto specifica e sensibile ma di alto costo.

La melatonina si presenta sotto varie forme commerciali, in compresse sublinguali, in compresse o capsule integrate (nota è l'adenosina per il metodo Di Bella) compresse a prolonged released, in cerotto transdermico, in fiale sottocutanee ed in fiale endovenose. La melatonina assunta sotto le varie forme passa nel circolo sanguigno ed in quantità più o meno elevata, a seconda delle modalità di assunzione, viene convertita dal fegato in 6-idrossimelatonina ed eliminata con le urine. La melatonina ha un'emivita da 30 a 60 minuti, ciò significa che scompare per il 50% dal sangue in 30 minuti. E' quindi necessario quando si assume la melatonina a rapido rilascio per via orale assumere quantitativi iniziali maggiori. Questo non avviene per la melatonina a rilascio lento che meglio simula ciò che avviene nell'organismo. Diverso è l'assorbimento sublinguale e parenterale ove si ha una percentuale più elevata di melatonina attiva nel sangue in quanto si salta l'"effetto di primo passaggio". È difficile stabilire la quantità di melatonina da assumere, dipende dall'età, dalla funzionalità epatica, dal tipo di preparato utilizzato, dai motivi per i quali la si assume e, non ultimo, dalla mancata, determinazione dei dosaggi in riferimento alla patologia da trattare. Occorre quindi essere seguiti da un medico esperto se si decide di assumere melatonina. Vale comunque il principio dell'assunzione del dosaggio più basso che ottiene l'effetto voluto con assunzione strettamente serale salva diversa necessità.

In base alle attuali conoscenze la melatonina può essere utilizzata quale induttore del sonno in dosaggio variabile da 2 a 9 mg prima di coricarsi, nella sindrome da jet lag in dosaggio da 6 a 12 mg, sempre prima di coricarsi secondo l'ora locale, come anti-radicalico in dosaggio tra 2 e 4 mg prima di coricarsi, come stimolatore del sistema immunitario in dosaggi da 2 a 20 mg, come anticancro in dosaggi varianti da pochi milligrammi a centinaia di milligrammi.

In riferimento allo specifico effetto anticancro della melatonina, che più compete in questo testo, si è visto che nella maggior parte delle sperimentazioni inibisce significativamente la crescita tumorale, in particolare per i tumori mammari, il melanoma, il tumore prostatico. Studi condotti su culture di cellule tumorali umane hanno evidenziato un'effetto oncostatico in particolare su cellule di tumore mammario ormono-dipendente. La melatonina agirebbe sia come antagonista degli estrogeni che della prolattina, in questo senso è probabile anche una modulazione esercitata dall'ormone pinealico su altri fattori endocrini ad esempio il GH. Sono state anche riscontrate strutture recettoriali per la melatonina su cellule tumorali umane, suggerendo la possibilità di un'azione oncostatica diretta.

La melatonina agirebbe anche sul sistema immunitario promuovendo l'incremento delle cellule LAK, NK, la secrezione di IL2 e di IFN γ .