Rosana Fátima Dantas Ferreira

Análise da dinâmica da melatonina liquórica

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Fisiologia Humana.

Orientador: Prof. Dr. José Cipolla Neto

São Paulo
2010

RESUMO

FERREIRA, R. F.D. **Análise da dinâmica da melatonina liquórica**. 2010. 42 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Humana) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

O hormônio melatonina é produzido pela glândula pineal de mamíferos de forma circadiana e sua secreção é mais elevada durante a noite. Melatonina é liberada no sistema ventricular cerebral através do recesso pineal do 3º ventrículo. Sabe-se que a concentração de melatonina é maior nos ventrículos cerebrais que no plasma e no líquido cerebroespinhal lombar. Para avaliar a dinâmica da melatonina liquórica no ratoWistar, coletamos, através de microdiálise, amostras do líquor do terceiro ventrículo cerebral deanimais jovens. Para avaliar a variação ontogenética em sua produção e liberação compararam-se as concentrações de melatonina liquórica em animais jovens e idosos. Observou-se também o perfil da melatonina liquórica em animais pinealectomizados. Esses procedimentos darão base para uma análise sistemática da dinâmica da melatonina no líquido cerebroespinal ventricular.

Palavras chave: Melatonina. Pineal. Microdiálise. Líquor. Envelhecimento. Pinealectomia.

ABSTRACT

FERREIRA, R.F.D. **Analysis of the dynamic of liquoric melatonin**. 2010. 42 p. Dissertation (Masters in HumanPhisiology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

The hormone melatonin is produced by the mammalian pineal gland in a circadian way and its secretion is higher at night. Melatonin is released to the cerebral ventricular system through the pineal recess of the III ventricle. We know that the concentration of melatonin is higher in the cerebral ventricles than in plasma and lumbar cerebrospinal fluid. To evaluate the dynamic of melatonin in the cerebrospinal fluid (CSF) in Wistar rats, we collected, using microdialisys, samples of cerebrospinal fluid in the III ventricle of young animals. To estimate the ontogenetic decrease in melatonin production and release we compared the concentrations of CSF melatonin in young and aged animals. The concentration of CSF melatonin was also evaluated in pinealectomized rats. These procedures will elucidate the dynamic of ventricular CSF melatonin.

Key words: Melatonin. Pineal. Microdialisys.Cerebrospinal fluid.Aging.Pinealectomy.

1 INTRODUÇÃO

1.1 O Líquido Cerebroespinal

O líquido cerebroespinhal (LCE) é um fluido incolor que circula nos ventrículos cerebrais e no espaço entre as duas membranas mais internas que envolvem o sistema nervoso central (SNC) – Aracnóide e Pia-mater – denominado espaço subaracnóide cerebral (TRUEX e CARPENTER, 1969).

O LCE é produzido por entrelaçamentos vasculares denominados Plexos Coróides (PC). Estes plexos estão presentes em todos os ventrículos cerebrais, a maior parte nos ventrículos laterais (BRODAL, 1998). A secreção de LCE se inicia nos ventrículos laterais (VL) e, passando pelo forâmen interventricular de Monro, flui para o terceiro ventrículo (3º V), onde uma quantidade adicional de LCE é produzida. Do 3°V vai para o quarto ventrículo (4°V), onde também há produção de LCE, através do aqueduto de Sylvius e entra no espaço subaracnóide através do forâmen de Magendie e Luschka(Figura 1) (LATERRA, et al., 2000). O LCE flui através dos espaços subaracnóides por toda superfície do cérebro e medula espinhal (BRODAL, 1998).

Nos humanos, são formados cerca de 600 ml de LCE por dia, porém os ventrículos e espaço subaracnóide comportam apenas aproximadamente 140 ml (SKIPOR e THIERRY, 2008). Isso requer um sistema eficiente de drenagem que é constituído pelas Granulações Aracnóides (GA) que são prolongamentos da membrana aracnóide para o interior da terceira e mais externa membrana do cérebro, a Dura-mater, onde essa membrana possui lacunas denominadas seios venosos. Essas GA são mais numerosas ao longo da fissura entre os hemisférios cerebrais e são os principais locais de transferência de LCE do espaço subaracnóide para o sistema venoso (Figura 1) (TRUEX e CARPENTER, 1969). A passagem de fluido do espaço subaracnóide para os seios venosos é provavelmente causada por diferença na pressão hidrostática que é maior no espaço subaracnóide que nos seios venosos (BRODAL, 1998).

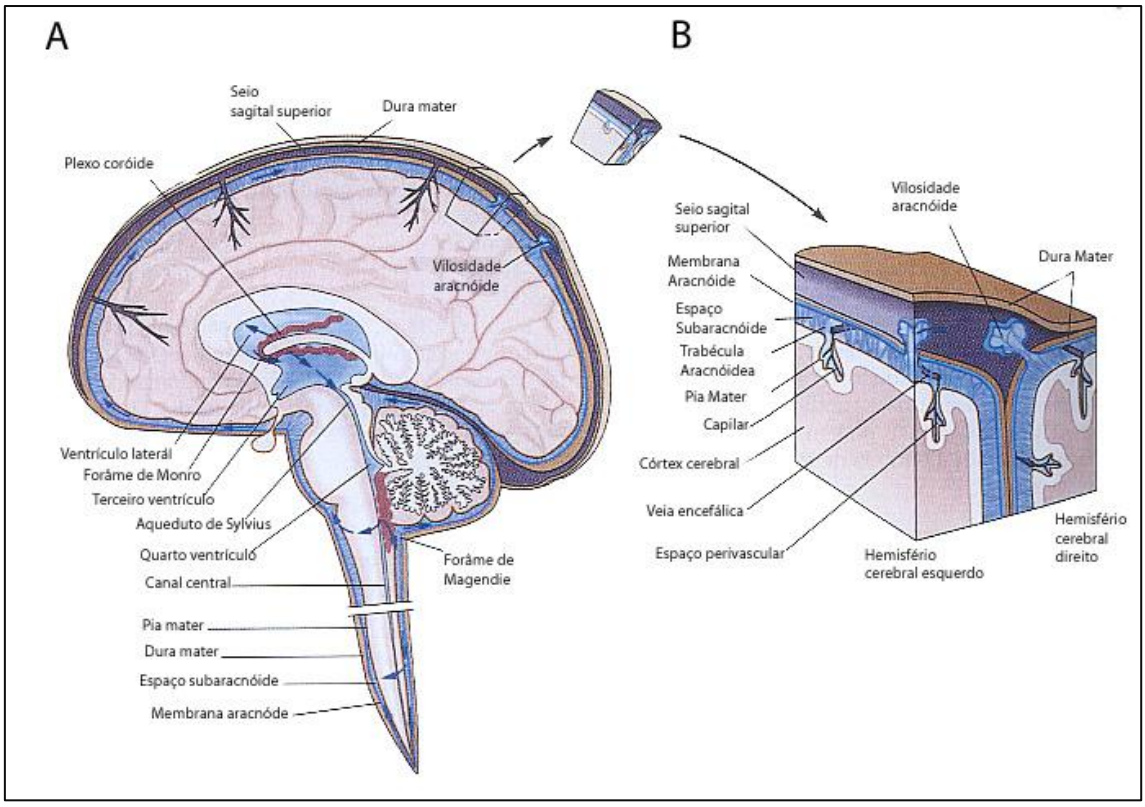

Figura 1. Distribuição do LCE. **A.** Locais de formação, circulação e absorção do LCE. Todos os espaços que possuem LCE comunicam-se com os espaços intersticiais cerebrais fazendo trocas e mudando a composição do LCE. **B.** O espaço subaracnóide é delimitado externamente pela membrana aracnóide e internamente pela pia mater, que se estende ao longo dos vasos sanguíneos que penetram a superfície do cérebro. Fonte:Modificado de Laterra(2000).

Portanto o fluxo de LCE se dá dos locais de formação para os locais de reabsorção, fazendo trocas com o tecido neural no caminho, modificando continuamente a composição de solutos do LCE (SKIPOR e THIERRY, 2008).

Este líquido age como uma camada protetora que amortece os tecidos neurais além de prover ao cérebro nutrientes essenciais e remover produtos de atividade neuronal (SKIPOR, 2008), servindo como um sistema linfático do SNC (LATERRA, et al., 2000).

Porém, estudos mais recentes sugerem que os PCs e o sistema LCE têm um papel bem mais ativo no funcionamento do SNC, sendo alvo, fonte e via para sinalização neuroendócrina no cérebro. As moléculas sinalizadoras no fluido intersticial do tecido cerebral podem agir de maneira autócrina/parácrina, mas também se mover ao longo do sistema ventricular e espaço subaracnóide através do LCE e exercer efeitos a distancia em células alvo do sistema nervoso central. As moléculas sinalizadoras presentes no LCE são originadas do sangue periférico, do próprio SNC e dos PCs (SKIPOR e THIERRY, 2008).

Entre as moléculas originadas no SNC e que estão presentes no LCE está o hormônio melatonina (MEL) sintetizado pela glândula pineal (glândula de origem neural).

1.2 Glândula Pineal e Melatonina

A glândula pineal é uma estrutura epitalâmica pequena e única, situada dorsalmente à região caudal do diencéfalo. Deriva-se de células neuroectodérmicas e desenvolve-se a partir de uma evaginação do teto da parede do terceiro ventrículo (KAPPERS,1960).

Nos roedores, a glândula pineal apresenta três porções distintas que formam o complexo pineal: pineal profunda, pedúnculo pineal e pineal superficial. A pineal profunda está localizada entre as comissuras posterior e habenular, delimitando uma região ventricular chamada de recesso pineal (RP) (Figura 2) (MOLLER,1992).

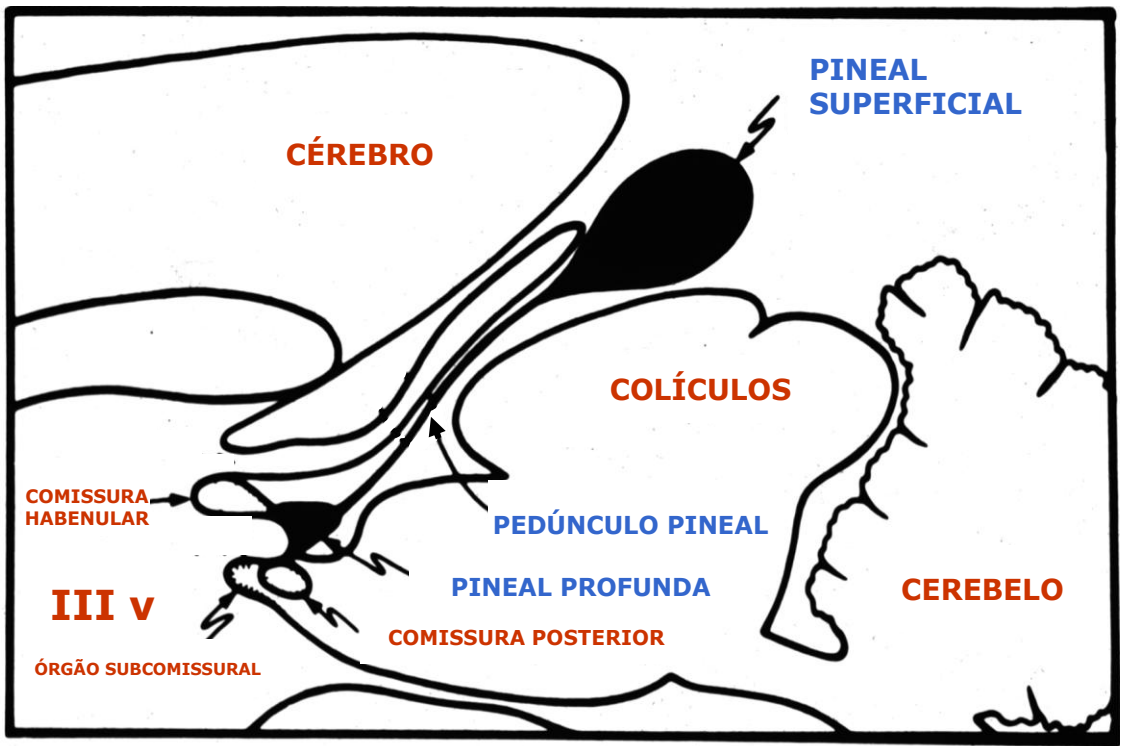

Figura 2. O Complexo pineal.

A glândula pineal apresenta neurônios modificados, os pinealócitos, que são as células produtoras do hormônio melatonina (SCHNEIDER, et al., 1981).

A melatonina é uma indolamina de baixo peso molecular (PM = 232,28) com característica anfifílica, ou seja, difunde-se tanto em meios hidrofílicos como lipofílicos graças à presença do grupamento metoxi no carbono 5 e do grupamento acil ligado ao grupamento amina (figura 3) (CIPOLLA- NETO e AFECHE, 2008).

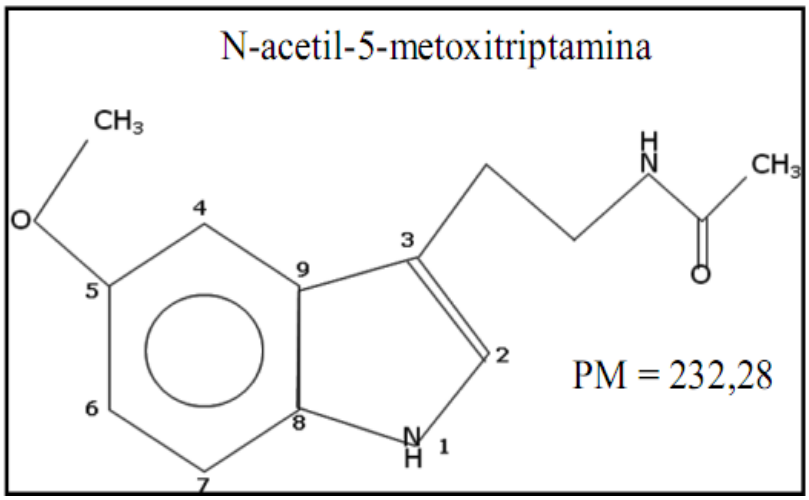

Figura 3. Estrutura química da melatonina
Fonte: Adaptado de Cipolla-Neto e Afeche(2008).

Em todos os vertebrados, independentemente se o animal tem hábitos diurnos ou noturnos, a produção de MEL é exclusivamente noturna e a magnitude e duração da sua síntese/secreção dependem exclusivamente do período escuro, apresentando assim, uma variação circadiana e sazonal de acordo com a duração do fotoperíodo (CIPOLLA-NETO, 1996). Dada essa marcante característica rítmica de produção, a MEL é considerada, portanto, um hormônio que funcionaria como um sincronizador do meio interno (*zeitgeiber*, doador de tempo). Esse padrão rítmico de secreção da MEL é importante porque dá ao organismo informação temporal que permite adaptação das funções fisiológicas às variações do ciclo claro-escuro (CIPOLLA-NETO e AFECHE, 2008).

No ser humano, o ritmo circadiano de MEL é desenvolvido por volta dos seis meses de vida e alcança seus maiores níveis entre 4 e 7 anos de idade. Na puberdade há uma queda nas concentrações de MEL e depois disso as concentrações plasmáticas diminuem gradualmente. Como conseqüência em indivíduos idosos quase não há diferença nas concentrações plasmáticas diurnas e noturnas de MEL (KARASEK, 2004). Essa diminuição na produção de MEL está associada à insônia em pacientes

idosos (PANDI-PERUMAL, et al., 2005) e a uma maior prevalência de câncer (PANDI-PERUMAL, et al., 2008).

Além da melatonina pineal, em mamíferos, outras estruturas periféricas como glândula de Harder, fígado, testículos, ovário, sistema vascular, trato gastrintestinal, musculatura lisa, células do sistema imune e retina também produzem melatonina, porém somente com ação local (SIMONNEAUX e RIBELAYGA, 2003). Apesar de a melatonina ser produzida em outros tecidos que não a glândula pineal, é dela, pineal, a procedência da melatonina circulante (REITER, 1991), ou seja, quando a glândula pineal é retirada cirurgicamente, o aumento na concentração noturna observada no plasma é abolida (OZAKI e LYNCH, 1976; LEWY, et al., 1980).

A melatonina é sintetizada na pineal a partir do triptofano captado da corrente sanguínea. O triptofano é transformado em 5-hidroxitriptofano (5-HTP) na mitocôndria dos pinealócitos pela triptofano-hidroxilase (TPH, E.C. 1.14.16.4) (LOVENBERG, et al., 1967). O 5-HTP é então convertido em serotonina (5-HT) no citosol dos pinealócitos sob a ação de uma descarboxilase inespecífica (LOVENBERG, et al., 1962; SNYDER e AXELROD, 1964). A 5-HT é acetilada pela arilalquilamina N-acetiltransferase (AA-NAT, E.C. 2.3.1.87) convertendo-se em N-acetilserotonina (NAS) (WEISSBACH, et al., 1960; VOISIN, et al., 1984). NAS é Oxi-metilada pela enzima hidroxi-indol-O-metiltransferase (HIOMT, E.C. 2.1.1.4), dando origem à N-acetil-5-metoxitriptamina (MEL) (Figura 4) (AXELROD e WEISSBACH, 1960).

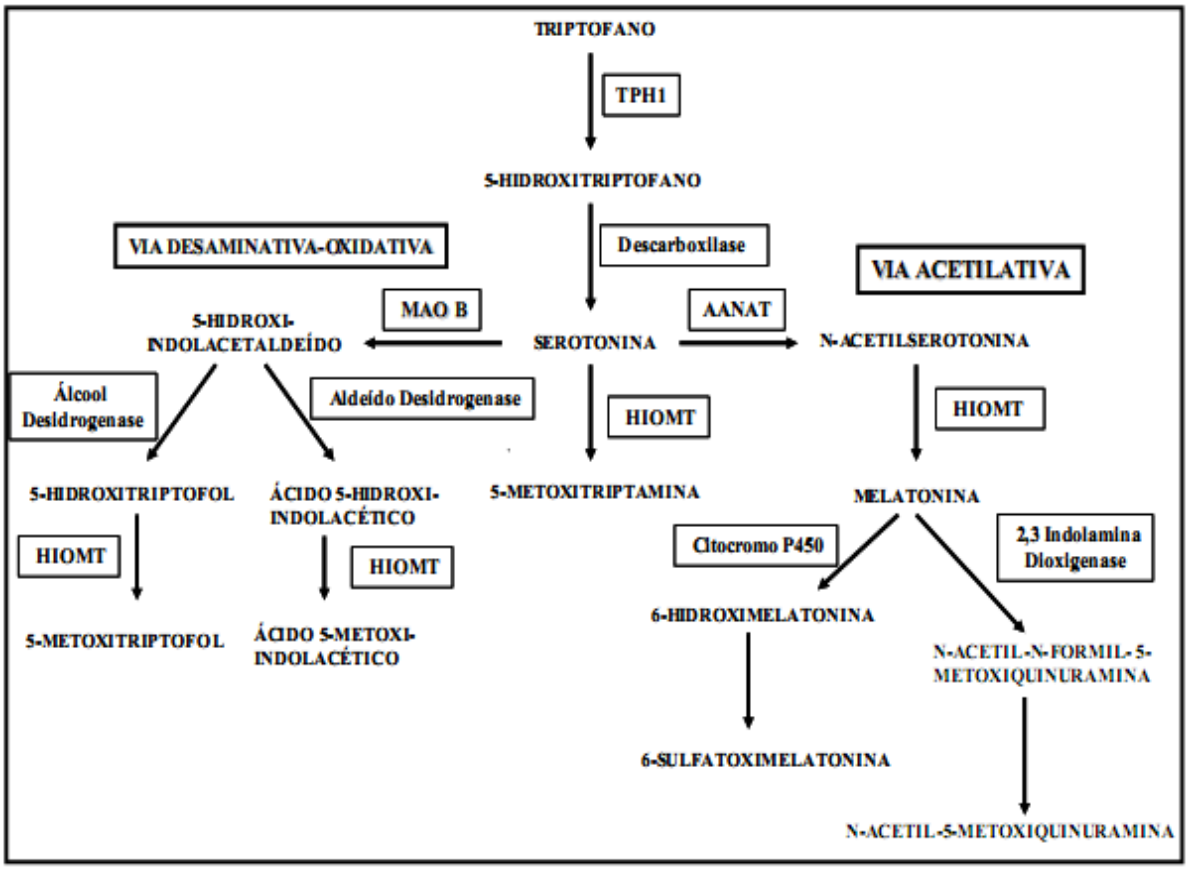

Figura 4. Vias de produção e metabolização da melatonina
Fonte: Adaptado de Cipolla-Neto e Afeche (2008).

A enzima passo limitante da produção de MEL é a AA-NAT, pois se observa um aumento noturno de mais de 150 vezes no RNAm que codifica essa enzima (ROSEBOOM, et al., 1996).

O padrão circadiano de atividade da enzima AA-NAT e conseqüentemente de produção e secreção de MEL é determinada pelos núcleos supraquiasmáticos hipotalâmicos (NSQ) (KLEIN e MOORE, 1979). A atividade do NSQ é sincronizada ao ciclo claro-escuro ambiental, luz essa, detectada pela retina. O sinal gerado na retina é transmitido para o NSQ pelo trato retino-hipotalâmico (ARENDT e SKENE, 2005). Células ganglionares retinianasglutamatérgicas projetam-se para o NSQ enviando a transmissão fótica dos sinais luminosos para o NSQ (BERSON, et al., 2002). Fibras GABAérgicas provenientes do NSQ inervam o núcleo paraventricular hipotalâmico (PVH). Para controlar a função da pineal, fibras eferentes do PVH contendo vasopressina passam pelo fascículo prosencefálico medial e tronco cerebral e, por fim, esse sistema descendente acaba fazendo conexões sinápticas com neurônios da coluna intermédio-lateral na medula espinhal torácica alta, de onde fibras simpáticas pré-

ganglionares (colinérgicas, portanto) se projetam para o gânglio cervical superior (GCS) (MOORE, 1996). As fibras pós-ganglionares simpáticas (originadas no GCS), noradrenérgicas, projetam-se sobre a glândula pineal (Figura 5).

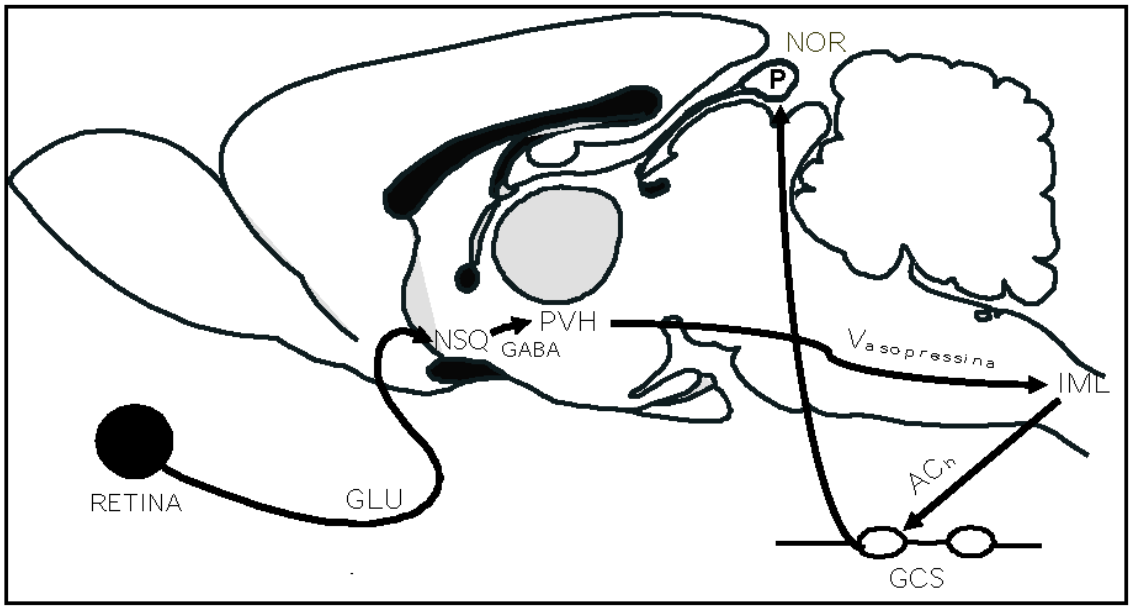

Figura 5. Vias neurais do controle diário da síntese de melatonina pela glândula pineal e os principais neurotransmissores envolvidos. GLU: glutamato; NSQ: núcleo supraquiasmático; GABA: ácido gama-aminobutírico; PVH: núcleo paraventricular hipotalâmico; IML: coluna intermédio lateral da medula espinal; Ach: acetilcolina; GCS: gânglio cervical superior; P: glândula pineal; NOR: noradrenalina
Fonte: Adaptado de Cipolla-Neto e Afeche(2008).

A ativação de receptores β-adrenérgicos na glândula resulta em elevação de adenosina monofosfato cíclico (AMPc) levando, no rato, a um aumento da síntese e da atividade da AA-NAT (KLEIN, et al., 1971). Receptores α-adrenérgicos também são encontrados na glândula pineal (SUGDEN e KLEIN, 1984) e sua ativação potencializa a atividade do receptor β-adrenérgico através do aumento do Ca^{+} intracelular e ativação da Proteína quinase C (PKC) (HO e KLEIN, 1987). Todos esses eventos em conjunto levam à produção noturna de MEL pela glândula pineal.

A MEL produzida é então, imediatamente liberada na corrente sanguínea, não sendo armazenada na glândula. A melatonina plasmática circula ligada à albumina. Sua meia vida no sangue é relativamente curta (10-40min) e numa única passagem pelo fígado, 90% da melatonina é metabolizada. Aproximadamente 75% da MEL captada pelas células hepáticas é convertida em 6- hidroximelatonina e então, em 6-sulfatoximelatonina e excretada na urina (REITER, 1991).

Para atingir seus alvos no SNC acreditava-se que a MEL seria liberada na circulação e os atingiria via circulação periférica, sendo secretada na veia de Galeno,

que drena o seio sagital antes de entrar na veia jugular. A MEL venosa seria então transportada finalmente de volta para o cérebro pelas artérias carótidas. Considerando a localização anatômica da glândula pineal no cérebro, essa rota seria muito longa (SKINNER e MALPAUX, 1999).

Por sua localização anatômica e por seus efeitos exercidos em estruturas centrais, surgiu a hipótese alternativa de que a MEL atingiria seus alvos centrais diretamente através do sistema ventricular (SKINNER e MALPAUX, 1999; TRICOIRE, et al., 2002). Esse hormônio seria um bom candidato a ser transportado pelo LCE, pois muitos de seus efeitos resultam de ação central. O efeito melhor caracterizado da MEL no SNC é o controle sazonal da reprodução. O sítio de ação da MEL está localizado na área pré-mamilar hipotalâmica que está muito perto do 3°V (0 a 1,5 mm).

Skinner, et al. (1999) observaram as concentrações de MEL nos ventrículos e compararam com os níveis encontrados no plasma jugular de ovelhas e caracterizaram pela primeira vez o padrão agudo de liberação de MEL no LCE. Os níveis noturnos no 3°V foram 20 vezes maiores que na veia jugular e sete vezes maiores que no ventrículo lateral (VL), sugerindo que a maioria da MEL detectável no LCE vem diretamente da glândula pineal.

Outro estudo confirmou, agora definitivamente, a entrada de MEL pelo terceiro ventrículo e comprovou que ela entraria pelo recesso pineal, pois observaram que os níveis de MEL eram mais altos no RP que na parte ventral do 3°V e que o bloqueio do RP diminuiu drasticamente (cerca de 80%) as concentrações de MEL no 3°V (TRICOIRE, et al., 2002).

Mais recentemente, em 2010, amostras de LCE foram coletadas do 3°V e do VL durante neurocirurgia em humanos e foram comparadas com amostras plasmáticas. Observou-se uma diferença significativa na concentração de MEL entre os ventrículos, com níveis maiores no 3°V. Os níveis de MEL foram significativamente maiores no 3°V que no plasma, porém não houve diferenças significativas entre as concentrações plasmáticas e no VL. Esses resultados mostraram que a MEL entra diretamente no LCE pelo recesso pineal também em humanos (LESTON, et al., 2010).

No sistema nervoso central a melatonina é degradada via clivagem oxidativa do anel pirrólico dando origem a N-acetil-N-formil-5-metoxiquinuramina (AFMK). A AFMK é convertida finalmente a 5-acetil-5-metoxiquinuramina (ZAWILSKA, et al., 2009). A família das quinuraminas tem sido relacionada a tratamentos farmacológicos

para desordens neurodegenerativas como epilepsia e derrame cerebral (STONE, 2001). Além disso, as concentrações de AFMK são altas em pacientes com meningite, indicando um possível mecanismo imunomodulatório nesses pacientes (SILVA, et al., 2005).

1.2.1 Ações da Melatonina no Sistema Nervoso Central

A mensagem hormonal da MEL liberada pela glândula pineal é distribuída rapidamente pelas estruturas cerebrais.

A melatonina pode exercer sua ação tanto diretamente atravessando as membranas e ligando-se a moléculas intracelulares quanto por intermédio de receptores de membrana e receptores nucleares.

Dois tipos de receptores de melatonina acoplados à proteína G foram clonados e caracterizados no SNC: MT-1 e MT-2, sendo o receptor MT-1 o mais abundante. A ativação do receptor MT-1 leva a uma diminuição no acúmulo de AMPc.

Outros efeitos da ativação do MT-1 já foram descritos nas concentrações intracelulares de GMPc, diacilglicerol, trifosfato de inositol e cálcio, na expressão de *c-fos*, e no potencial de membrana da célula (SIMONNEAUX e RIBELAYGA, 2003). O receptor MT-2 é expresso principalmente na retina e em menor escala no SNC.

Um terceiro tipo de receptor que inicialmente foi chamado de MT-3 foi mais tarde caracterizado como a enzima quinonaredutase do tipo 2. Essa enzima pertence a um grupo de redutases que participam na proteção contra estresse oxidativo (SIMONNEAUX e RIBELAYGA, 2003).

A MEL é também ligante para receptores nucleares órfãos relacionados ao ácido retinóico (RZR/RORα) (PANDI-PERUMAL, et al., 2008). O significado funcional desses receptores nucleares ainda é questão de debate (ZAWILSKA, et al., 2009).

Sabe-se atualmente que pelo menos 110 estruturas cerebrais expressam receptores de melatonina (SIMONNEAUX e RIBELAYGA, 2003). Esses receptores são expressos em áreas como o núcleo supraquiasmático, vários núcleos hipotalâmicos e talâmicos, hipocampo, neurônios dopaminérgicos, córtex cerebelar, córtex pré-frontal, gânglios da base, *substancia nigra*, área tegmentar ventral, nucleoaccumbens e células horizontais, amácrinas e ganglionares da retina e etc. (PANDI-PERUMAL, et al., 2008; ZAWILSKA, et al., 2009). Os locais de maior expressão de receptores de melatonina

em roedores adultos são *parstuberalis* da hipófise anterior e a área postrema (ZAWILSKA, et al., 2009).

Vários trabalhos têm demonstrado a melatonina como um importante modulador de funções do SNC. El- Sherif, et al. (2003) demonstraram que a melatonina regula a plasticidade dos neurônios piramidais no hipocampo. Neste experimento, neurônios expostos à melatonina mudaram sua excitabilidade em resposta a estimulações repetitivas (potenciação a longo prazo), sendo assim, MEL pode ser considerada uma molécula endógena cujos níveis de oscilação naturais podem modular fenômenos de plasticidade neural ligados a processos de aprendizado e memória. Além disso, MELregula também os ritmos circadianos e sazonais, o ciclo vigília-sono, modula a neurotransmissão, regula o sistema imunológico e tem ação antioxidante e antienvelhecimento (SIMONNEAUX e RIBELAYGA, 2003).

Alterações na expressão do receptor de melatonina, mudanças na produção endógena de MEL, além de seus efeitos benéficos têm sido demonstrados em várias neuropatologias. Por exemplo, seu efeito protetor tem sido observado em doenças neurodegenerativas como Alzheimer e Parkinson (CATALÁ, et al., 1997; WU, et al., 2003; MATSUBARA, et al., 2003; PANDI-PERUMAL, et al., 2008; OLCESE, et al., 2009). MEL tem implicações fisiológicas em vários tipos de cefaléias através de seus efeitos antiinflamatório e anti-radicais livres, de sua regulação neurovascular, entre outras (PERES, 2004). Além disso, possui efeitos anti-carcinogênicos (STEVENS, et al., 2007), modula a pressão sanguínea e protege o sistema cardiovascular (PAULIS e SMIKO, 2007). Alterações no padrão de secreção de MEL são encontradas em desordens psiquiátricas como psicose (MIYAZAKI, et al., 2003), desordem afetiva sazonal, depressão, transtorno bipolar, bulimia, anorexia, esquizofrenia e transtorno obsessivo compulsivo (PACCHIEROTTI, et al., 2001).

5 CONCLUSÕES

Pode-se concluir, portanto, com esse trabalho a extrema importância da melatonina para o sistema nervoso central, visto que seus níveis continuam semelhantes no animal jovem, no idoso e no pinealectomizado. Porém esse estudo levantou outras perguntas: 1) Os níveis encontrados nos animais idosos seriam somente de origem pineal, já que se sabe que com o passar dos anos a produção de melatonina pela glândula pineal decai? 2) As quantidades encontradas no animal pinealectomizados seria estritamente originada na pineal profunda, considerando que seus níveis foram muito próximos dos níveis encontrados no animal não pinealectomizado? 3) Os níveis de melatonina no líquor dos animais analisados seriam originados somente na pineal profunda? 4) Melatonina é produzida em diversos tecidos periféricos. Porque justamente no cérebro onde sua ação antioxidante é mais necessária, não haveria outros locais de produção desse hormônio?

São necessários mais estudos para responder consistentemente a essas dúvidas. Para isso seriam necessários experimentos com pinealectomia e lesão da pineal profunda e posterior observação dos níveis liquóricos. Se esse níveis ainda forem detectados podemos inferir que outras estruturas também produzem melatonina no sistema nervoso central. Se isso se confirmar torna-se necessário a realização de experimentos para localização e caracterização de locais no SNC que produzem esse hormônio.

REFERÊNCIAS*

AMARAL, F.G. **Perfil diário e os mecanismos de produção de melatonina pela glândula pineal de ratos diabéticos por estreptozotocina**. 2009. 181 f. Tese (Doutorado em Fisiologia e Biofísica) - Departamento de Fisiologia e Biofísica, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

ARENDT, J.; SKENE, D.J. Melatonin as a chronobiotic. **Sleep Med. Rev**.,v. 9, p. 25-39, 2005.

AXELROD, J.; WEISSBACH, H. Enzymatic O-methylation of N-acetylserotonin to melatonin. **Science,** v. 131, p. 1312, 1960.

BARLOW-WALDEN, L.; REITER, R. J.; ABE, M.; PABLOS, M. I.; MENENDEZ-PELAEZ, A.; CEHN, L. D.; POEGGELER, B. Melatonin stimulates brain glutathione peroxidase activity. **Neurochem Int**., v. 26, n. 5, p. 497-502, 1995.

BERSON, D., M.; DUNN, F. A.; TAKAO, K. Phototransduction by retinal ganglion cells that set the circadian clock. **Science**, v. 295, n. 5557, p. 1065-1070, 2002.

BORJIGIN, J.; LIU, T. Application of long-term microdialysis in circadian rhythm research.**Pharmacology, Biochemistry and Behavior,** v. 90, p. 148-155, 2008.

BRODAL, P. The different parts of the nervous system. In: BRODAL, P.**The central nervous system**: structure and function**.** 2nd ed. New York: Oxford University Press, 1998.

CATALÁ, M. D.; CAÑETE-NICOLÁS, C.; ARADI, A.; TARAZONA, F. J.; TORMOS, J.M.; PASCUAL-LEONE, A. Melatonin levels in Parkinson´s disease: drug therapy versus electrical stimulation of the internal globuspallidus. **Experimental Gerontology**, v. 32, p. 553-558, 1997.

CIPOLLA-NETO, J.; AFECHE, S.C. Glândula Pineal. In: AIRES, M.M. (Ed.). **Fisiologia.** 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2008. p. 981-990.

CIPOLLA-NETO, J. **Controle neural do metabolismo da glândula pineal**.1996. 74 f. Tese (Livre Docência) -Departamento de Fisiologia e Biofísica, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

*__De acordo com:__ ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

EL-SHERIF, Y.; TESORIERO, J.; HOGAN M. V.; WIERASZKO, A. Melatonin regulates neuronal plasticity in the hippocampus. **J. Neurosci Res**.,v. 72, p. 454-460, 2003.

GARIDOU, M. L.; BARTOL, I.; CALGARI, P.; PÉVET, P.; SIMONNEAUX V.In vivo observation of a non-noradrenergic regulation of arylalkylamine n-acetyltransferase gene expression in the rat pineal complex. **Neuroscience,** v. 105, n. 3,p.721-729, 2001.

HO, A. K.; KLEIN, D.C. Activation of alpha 1-adrenoreceptors, protein kinase C, or treatment with intracellular free Ca^{2+} elevating agents increases pineal phospholipase A2 activity. Evidence that protein kinase C may participate in Ca^{2+} -dependent alpha 1-adrenergic stimulation of pineal phospholipase A2 activity. **J. Biol. Chem**., v. 262,p. 11764-11770, 1987.

KALSBEEK, A.; GARIDOU, M. L.; PALM, I. F.; SIMONNEAUX, V.; PEVET, P.; BUIJS, R. M. Melatonin sees the light: blocking GABA-ergic transmission in the paraventricular nucleus induces daytime secretion of melatonin. **Eur. J. Neurosci**., v.12, p. 3146-3154, 2000.

KAPPERS J. A. The development, topographical relations and innervations of epiphysis cerebri in albin rat. **Zeitschrift fur Zellforschung,** v. 52,p. 163-215, 1960.

KARASEK, M. Melatonin, human aging, and age-related diseases.**Experimental Gerontology,** v. 39, p. 1723-1729, 2004.

KARASEK, M.; WINCZYK, K. Melatonin in humans.**Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 57, p. 19-39, 2006.

KLEIN, D.C.; WELLER, J. L.; MOORE, R.Y. Melatonin metabolism: neural regulation of pineal serotonin: acetyl coenzyme A N-acetyltransferase activity. **Proc. Natl. Acad Sci**., v. 68, p. 3107-3110, 1971.

KLEIN, D. C.; MOORE, R.Y. Pineal N-acetyltransferase and hidroxyindole-O-metiltransferase: control by the retinohypothalamic tract and suprachiasmatic nucleus. **Brain Res**., v. 174, p. 245-262, 1979.

KLEIN, D. C.; SCHAAD, N. L.; NAMBOODIRI, M. A. A.; WELLER, J. L. Regulation of pienal serotonin N acetyltransferase activity. **Biochem.Soc. Trans.,** v. 20, n. 2, p. 299-304, 1992.

LAHIRI, D. K.; GE, Y. W.; SHARMAN E. H.; BONDY, S. C. Age related changes in serum melatonin in mice: higher levels of combined melatonin and 6-hydroxymelatonin sulfate in the cerebral cortex than serum, heart, liver and kidney tissues. **J. Pineal Res.**, v. 36, n. 4, p. 217-23, 2004.

LATERRA, J.; GOLDSTEIN, G. W. Ventricular organization of cerebral fluid: blood-brain-barrier, brain edema and hydrocephalus. In: KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSEL, T. M. **Principles of Neural Science**. 4. ed. United States: McGraw-Hill Companies Inc. USA, 2000.

LESTON, J.; HARTHÉ, C.; BRUN, J.; MOTTOLESE, C.; MERTENS, P.; SINDOU, M.; CLAUSTRAT, B. Melatonin is released in the third ventricle in humans. A study in movement disorder. **Neuroscience Letters**, v. 469, p. 294-297, 2010.

LEWY, A. J.; TETSUO, M.; MARKEY, S. P.; GOODWIN, F. K.; KOPIN, I. J. Pinealectomy abolishes plasma melatonin in the rat. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 50, n. 1, p. 204-205, 1980.

LOVENBERG W.; WEISSBACH H.; UNDENFRIEND, S. Aromatic L-aminoacid decarboxylase.**J. Biol. Chem**., v. 237, p. 89-92, 1962.

LOVENBERG, W.; JEQUIER, E.; SJOERDSMA, A. Thryptophan hydroxylation, measurement in pineal gland, brain stem and carcinoid tumor. **Science,** v. 155, p. 217-19, 1967.

MATSUBARA, E.; BRYANT-THOMAS, T.; QUINTO, J. P.; HENRY, T. L.; POEGGELER, B.; HERBERT, D.; CRUZ-SANCHES, F.; CHYAN Y.; SMITH, M. A.; PERRY, G.; SHOJI M.; ABE, K.; LEONE, A.; GRUNDKE-IKBAL, I.; WILSON, G.L.; GHISO, J.; WILLIAMS, C.; REFOLO, L. M.; PAPPOLLA, M.A. Melatonin increases survival and inhibits oxidative and amyloid pathology in a transgenic model of Alzeheimer´s disease. **J.Neurochem**., v. 85, p. 1101-1108, 2003.

MEFFORD, I. N.; CHAG, P.; KLEIN, D.C.; NAMBOODIRI, M. A.; SUDGEN, D.; BARCHAS, J. Reciprocal day/night relationships between serotonin oxidation and N-acetylation products in the rat pineal gland. **Endocrinology,** v. 113, n. 5, p. 1582-1586, 1983.

MIYAZAKI, T.; KUWANO, H.; KATO, H.; ANDO, H.; KIMURA, H.; INOSE, T.; OHNO, T.; SUZUKI, M.; NAKAJIMA, M.; MANDA, R.; FUKUCHI, M.; TSUKADA, K. Correlation between serum melatonin circadian and intensive care unit psychosis after thoracic esophagectomy. **Surgery,** v. 133, p. 662-668, 2003.

MOLLER, M. Fine structure of the pinealopetal innervation of the pineal gland. **Microsc. Res. Tech.**, v. 12, n. 3, p. 188-204, 1992.

MOORE, R.Y. Neural control of pineal gland.**Behav. Brain Res**., v. 73, p. 125-130, 1996.

OLCESE J. M; CAO, C.; MORI, T.; MAMCARZ, M. B.; MAXWELL, A.; RUNFELDT, M. J.; WANG, L.; ZHANG, C.; LIN, X.; ZHANG, G.; ARENDASH, G.W. Protection against cognitive deficits and markers of neurodegeneration by long-term oral administration of melatonin in a transgenic model of Alzeheimer´s disease. **J. Pineal Res**., v. 47, p. 82-96, 2009.

OZAKI, Y.; LYNCH, H. J. Presence of melatonin in plasma and urine of pinealectomized rats.**Endocrinology**, v. 99, p. 641-644, 1976.

PACCHIEROTTI, C.; IAPICHINO, S.; BOSSINI, L.; PIERACCINI, F. Melatonin in psychiatric disorders: a review on the melatonin involvement in psychiatry. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 22, p. 18-32, 2001.

PANDI-PERUMAL, S. R.; TRAKHT, I.; SRINIVASAN, V.; SPENCE, D. W.; MAESTRONI, G.J. M.; ZIZAPEL, N.; CARDINALI, D.P. Physiological effects of melatonin: Role of melatonin receptors and signal transduction pathways. **Progress in Neurobiology**, v. 85, p. 335-353, 2008.

PANDI-PERUMAL, S. R.; ZIZAPEL, N.; SRINIVASAN, V.; CARDINALI, D.P. Melatonin and sleep in aging population.**Experimental Gerontology**, v. 40, p. 911-925, 2005.

PAULIS, L.; SIMKO, F. Blood pressure modulation and cardiovascular protection by melatonin: potential mechanism behind. **Physiol. Res.,** v. 56, p. 671-684, 2007.

PERES, M.F.P. Melatonin, the pineal gland and their implication for headache disorders. **Cephalgia**, v. 25, p. 403-411, 2005.

PIERI, C.; MARRA, M.; MORONI, F.; DECCHIONI, R.; MARCHESELLI, F. Melatonin: a peroxil radical scavenger more effective than vitamine E. **Life Sci**., v. 55, p. 271-276, 1994.

REITER, R. J. Pineal function during aging attenuation of the melatonin rhythm and its neurobiological consequences. **Acta Neurobiol Exp (Wars),** p. 31-39, 1994.Supplement.

REITER, R. J. Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. **The Endocrine Society**, v. 12, p. 151-180, 1991.

REITER, R. J. Oxygen radical detoxification process during aging: the functional importance of melatonin. **Aging**, v. 7, n. 5, p. 340-351, 1995.

REITER, R. J. What constitute a physiological concentration of melatonin? **J. Pineal Res.,** v. 34, p. 79-80, 2003.

RIBELAYGA, C.; GAUER, F.; PÉVET, P.; SIMONNEAUX, V. Distribution of hydroxyindole-O-methyltransferase in the rat brain: an *in situ* hybridization study. **Cell Tissue Res**., v. 291, p. 415-421, 1998.

ROSEBOOM P. H.; COON, S. L.; BALER, R.; McCUNE, S.K.; WELLER, J.L.; KLEIN, D.C. Melatonin synthesis: analysis of more than 150-fold nocturnal increase in serotonin N-acetyltransferase messenger ribonucleic acid in the rat pineal gland. **Endocrinology,** v. 137, n. 7, p. 3033-3044, 1996.

SCHNEIDER T.; SEMM P.; VOLLRATH, L. Ultrastructural observations on the central innervations of the guinea-pig pineal gland.**Cell Tissue Res**., v. 220, n. 1, p. 41-49, 1981.

SILVA, S. O.; XIMENES, V. F.; LIVRAMENTO, J.A.; CATALANI, L. H.; CAMPA, A. High concentrations of the melatonin metabolite, N-acetyl-N- formyl-5-metoxykynuramine, in the cerebrospinal fluid of patients with meningitis: a possible immunomodulatory mechanism. **J. Pineal Res**., v. 39, p. 302-306, 2005.

SIMONNEAUX, V. & RIBELAYGA, C. Generation of melatonin endocrine message in mammals: A review of the complex regulation of melatonin sinthesys by norepinephrine, peptides and other pineal transmitters. **Pharmacol.Rev.,** v. 55, p. 325-395, 2003.

SKINNER D. C.; MALPAUX B. High melatonin concentration in third ventricular cerebrospinal fluid are not due to galen vein blood recirculation through the choroid plexus. **Endocrinology**, v. 140, p. 4399-4405, 1999.

SKIPO, J; THIERRY, J. C. The choroid plexus – cerebrospinal fluid system: undervaluated pathway of neuroendocrine signaling into the brain. **ActaNeurobiol Exp.,** v.68, p. 414-428, 2008.

SNYDER, S.H.; AXELROD, J.A sensitive assay for 5-hydroxytryptophan decarbolylase.**Biochem.Pharmacol.,** v. 13, p. 805-06, 1964.

STEVENS, R. G.; BLASK, D. E.; BRAINARD G. C.; HANSEN J.; LOCKLEY, S. W.; PROVENCIO, I.; REA, M. S.; REINLIB, L. Meeting report: the role of environmental lighting and circadian disruption in cancer and other diseases. **Environmental Health Perspectives**, v. 115, p. 1357-62, 2007.

STONE, T.W. Kynurenines in the CNS: from endogenous obscurity to therapeutic importance. **Progress in Neurobiology,** v. 64, p. 185-218, 2001.

SUGDEN, D.; KLEIN, D.C. Rat pineal alpha 1-adrenoreceptors: identification and characterization using [125I]iodo-2-[beta-(4-hydroxyphenyl)-ethylaminomethyl] tetralone. **Endocrinology**, v. 114, p. 435-440, 1984.

SWANSON, L.W. **Brain Maps:** Structure of the Rat Brain. 2nd ed.Amsterdam: Elsevier Science B. V., 1998.

TAN, D. X.; CHEN, L. D.; POEGGELER, B.; MANCESTER, L. C.; REITER, R.J. Melatonin: a potent endogenous hydroxyl radical scavenger. **Endocrine J**., v. 1, p. 57-60, 1993.

TRICOIRE, H.; LOCATELLI, A.; CHEMINUAUX, P.; MALPAUX, B. Melatonin enters the cerebrospinal fluid through the pineal recess. **Endocrinology**, v. 143, n. 1, p. 84-90, 2002.

TRICOIRE, H.; MALPAUX, B.; MOLLER, M. Cellular lining of the sheep pineal recess studied by light-, transmission-, and scanning electron microscopy: morphologic indications for a direct secretion of melatonin from the pineal gland to the cerebrospinal fluid. **The Journal of Comparative Neurology,** v. 456, p. 39-47, 2003.

TRUEX, R. C. The meninges and the cerebrospinal fluid. In: TRUEX, R. C.; CARPENTER, M. B. **Human Neuroanatomy**. 6th ed.Baltimore, Maryland:The Williams & Wilkins Company, 1969.

VOISIN, P.; NAMBOODIRI, M. A. A.; KLEIN, D. C. Arylamine N-acetyltransferase and aryl-alkylamine N-acetyltransferase in the mammalian pineal gland.**J. Biol. Chem**., v. 259, p. 10913-10918, 1984.

WANG, X. The anti-apoptotic activity of melatonin in neurodegenerative diseases.**CNS Neurosci.Ther**.,v. 15, n. 4,p.345-357, 2009.

WEISSBACH, H.; REDFIELD, B. G.; AXELROD, J. Biosynthesis of melatonin: enzymatic conversion of serotonin to N-acetyl-serotonin. **Biochem.Biophys.Acta**., v. 43, p. 352-353, 1960.

WITHYACHUMNARNKUL, B.; KNIGGE, K. M. Melatonin concentration in cerebrospinal fluid, peripheral plasma and plasma of the confluinssinnum of the rat. **Neuroendocrinology**, v. 30, n. 6.p. 382-388, 1980.

WU, Y.; FEENSTRA, G. P.; ZHOU, J.; LIU, R.; TORAÑO, J. S.; KAN, H.J.M. V.; FISCHER D. F.; RAVID, R.; SWAAB, D.F. Molecular changes underlying reduced pineal melatonin levels in Alzeheimer disease: alterations in preclinical and clinical stages. **J. Clin.Endocrinol.Metab**., v. 88, n. 12, p. 5898-5906, 2003.

ZAWILSKA, J. B.; SKENE, D. J.; ARENDT, J. Physiology and pharmacology of melatonin in relatin to biological rhythms.**Pharmacological Reports**, v. 61, p. 383-410, 2009.