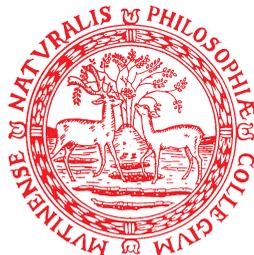


Frontespizio del n. 1, anno I, dell'Annuario della Società dei Naturalisti in Modena, maggio 1866, contenente il primo Statuto della Società.

1866-2016

**150 anni dalla pubblicazione del primo
numero degli Atti della Società
dei Naturalisti e Matematici di Modena
(già “Annuario della Società dei Naturalisti in Modena”)**



Atti della Società dei Naturalisti e Matematici di Modena è una rivista annuale, fondata nel 1866, che pubblica articoli originali riguardanti discipline scientifiche e ambientali (con particolare riguardo alla Regione Emilia-Romagna e all'Italia) e gli atti sociali. La rivista viene distribuita gratuitamente ai Soci e alle Società e Accademie corrispondenti, italiane e straniere, in tutte le parti del mondo. La rivista è indicizzata da: Bibliography and Index of Geology (USA), Biological Abstracts (USA), Chemical Abstracts (USA), Zoological Record (Gran Bretagna) e Referativnyi Zhurnal (Russia).

Consiglio Direttivo (2014-2016)

Presidente: Prof. Roberto Bertolani

Consiglieri: Prof. Ivano Ansaloni, Dott.ssa Giovanna Barbieri, Dott.ssa Federica Calvi, Prof.ssa Franca Cattelani, Prof. Giovanni Tosatti, Prof. Paolo Zannini.

Revisori dei Conti: Dott. Fabrizio Buldrini, Prof. Gilberto Coppi, Prof.ssa Lucrezia Mola;
membro supplente: Prof. Giampiero Ottaviani.

Norme per l'accettazione degli articoli

Le comunicazioni sottomesse agli Atti della Società dei Naturalisti e Matematici di Modena per la pubblicazione, dopo che la Redazione abbia verificato la loro pertinenza con gli ambiti disciplinari della rivista, saranno sottoposte al giudizio di uno o due *referee* esterni, che valuteranno i lavori sia sotto l'aspetto dei contenuti sia sotto quello formale ed esprimeranno il loro parere vincolante circa l'accettabilità dei lavori stessi. Gli articoli presentati in inglese e gli *Abstract* saranno inoltre sottoposti a controllo linguistico da parte di docente madrelingua.

Settori disciplinari e relativi revisori scientifici

Meteorologia, Climatologia: Prof. Dino Zardi (Università di Trento), Dr. Paolo Frontero (ARPA Veneto)

Scienze della Terra: Prof. Claudio Tellini (Università di Parma), Dr. Alessandro Pasuto (CNR-IRPI, Padova)

Botanica, Agraria: Dr.ssa Claudia Angiolini (Università di Siena), Dr.ssa Laura Sadori (Sapienza Università di Roma)

Zoologia, Ecologia: Prof.ssa Annamaria Volpi Ghirardini (Ca' Foscari Università di Venezia), Prof. Vincenzo Vomero (Direttore Musei Scientifici di Roma)

Matematica: Prof. Sergio Invernizzi (Università di Trieste)

Fisica: Prof.ssa Marisa Michelini (Università di Udine)

Chimica, Scienze Farmaceutiche: Prof. Gabriele Caviglioli (Università di Genova)

Archeologia, Antropologia: Dr. Marco Bettelli (CNR-ICEVO, Roma), Dr. Alessandro Vanzetti (Sapienza Università di Roma)

Lingua Inglese: Prof.ssa Andrea Mary Lord (già Università di Modena e Reggio Emilia)



Associato alla Unione
Stampa Periodica Italiana

ISSN 0365 - 7027

Autorizzazione del Tribunale di Modena n. 387 del 10 agosto 1962

Direttore Responsabile: Giovanni Tosatti

Redazione: Atti della Società dei Naturalisti e Matematici di Modena

Via Università 4, 41121 Modena, Italia

Codice Fiscale: 80016770366

sito web: www.socnatmatmo.unimore.it

e-mail: john.tosatti@gmail.com



Carmen Laurino^{*1,2}, Beniamino Palmieri^{1,2}, Maria Valalà^{1,2}

La melatonina vegetale: un nutraceutico da valorizzare

Riassunto

La melatonina è un'importante molecola antiossidante, con il ruolo di ormone, presente sia nel regno animale che vegetale. Nell'uomo è coinvolta principalmente nella regolazione delle funzioni cerebrali e dei ritmi circadiani, interagendo con uno svariato numero di meccanismi di segnalazione. Nei vegetali è responsabile della protezione dei tessuti dallo stress ossidativo, nella regolazione del fotoperiodismo, del night signal, della crescita della pianta e della sua protezione da inquinanti ambientali e stress termici. Studi clinici hanno dimostrato gli effetti terapeutici della melatonina nei confronti di patologie dell'apparato gastrointestinale, sistema nervoso centrale, cancro, diabete, ipertensione, cataratta, malattie autoimmuni e nella regolazione del ciclo riproduttivo legato alla stagionalità. Questo studio analizza le proprietà terapeutiche della melatonina di sintesi e dei complessi vegetali contenenti l'ormone, per capire quali siano le differenze in termini di beneficio e di effetti collaterali associati ad entrambe le formulazioni.

Abstract

***Phytomelatonin: a nutraceutical to be appreciated.** Melatonin is firstly a hormone and secondly a very effective anti-oxidant molecule. It is synthesized by animals and plants for regulating different vital mechanisms. In humans, melatonin regulates circadian rhythms and cerebral physiology; while in plants this molecule prevents cellular damage caused by oxidative stress. In addition, it is involved in the regulation of photoperiods, night signal, plant's growth and protection from environmental pollutants and thermal stress. Clinical studies have demonstrated the therapeutic effects of melatonin in the management of different pathologies, such as gastrointestinal and neurodegenerative diseases, cancer, diabetes, hypertension, cataract, immunological disorders and reproductive cycle dysfunctions. This study investigates the beneficial properties of synthetic melatonin and phytochemicals in which this molecule is present, in order to elucidate differences in terms of risk/benefit associated with therapeutic melatonin administration.*

Parole chiave: antiossidanti, fitocomplesso, fitomelatonina, radicali liberi, stress ossidativo

Key words: antioxidant molecules, phytocomplex, phytomelatonin, free radicals, oxidative stress

* Autore per la corrispondenza: Carmen Laurino, e-mail: carmen.laurino@hotmail.it.

¹ Dipartimento Chirurgico, Medico, Odontoiatrico e di Scienze Morfologiche con Interesse Trapiantologico, Oncologico e di Medicina Rigenerativa, Università di Modena e Reggio Emilia, Via del Pozzo 71, 41124 MODENA.

² Network del Secondo Parere, MODENA.

1. Sintesi

La melatonina vegetale o fitomelatonina (Fig. 1), chimicamente è una indolammina (N-[2-(5-metossi-1H-indol-3-il)etil]etanammide), ha la stessa struttura chimica della melatonina prodotta nel regno animale e possiede massa molecolare di 232,278 Da (dalton). Viene sintetizzata a partire dal triptofano, aminoacido essenziale. La via molecolare biosintetica è schematizzata in Fig. 2. Tale via molecolare avviene sia nel regno animale, ma anche in una grande varietà di vegetali, frutta, semi ed erbe medicinali. Inoltre, la melatonina vegetale può essere anche assorbita dal sottosuolo attraverso le radici (Paredes *et al.*, 2009).

La conservazione di questa molecola sia nel regno animale sia nel regno vegetale fa sì che essa continui a rivestire un ruolo di estrema rilevanza nella regolazione dei meccanismi fisiologici.

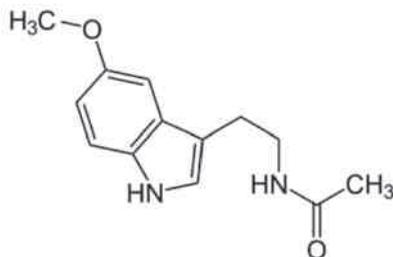


Fig. 1 – Struttura molecolare della fitomelatonina ($C_{13}H_{16}N_2O_2$), IUPAC: N-[2-(5-metossi-1H-indol-3-il)etil]etanammide).

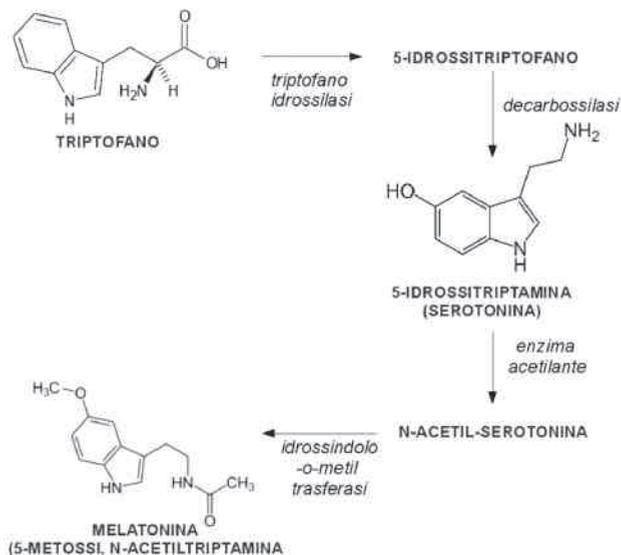


Fig. 2 – Via molecolare biosintetica della melatonina. Il triptofano, aminoacido essenziale, viene ossidato dall'enzima triptofano idrossilasi in 5-idrossitriptofano in presenza della Tetraidrobiopterina,

un pigmento affine alla vitamina B2. Successivamente tale substrato viene decarbossiato a 5-idrossitriptamina (serotonina) per mezzo dell'enzima 5-Idrossitriptofan decarbossilasi, con la compresenza della Vitamina B6 (o piridossalfofato). La serotonina viene acetilata dall'enzima N-Acetil-transferasi (NAT) a produrre N-acetil-serotonina. L'acetile è ceduto alla serotonina dall'Acetil-Coenzima-A (AceCoA), composto molto complesso ed altamente instabile, che interviene in numerose altre reazioni metaboliche (Si ritiene che l'N-acetil-transferasi sia il fattore limitante della via biosintetica della melatonina). Infine quest'ultima molecola viene convertita in melatonina (5-metossi-N-acetiltryptamina) ad opera dell'enzima Idrossi-indol-ossigeno-metil-transferase (HIOMT).

2. La melatonina nel regno vegetale

Nelle cellule vegetali la melatonina è sintetizzata nei cloroplasti e nei mitocondri. La sua sintesi varia in relazione alla intensità della luce e ai ritmi circadiani, suggerendo che le funzioni della fitomelatonina nelle piante sono analoghe a quelle negli animali. Qui di seguito sono riassunti le principali funzioni della melatonina nel regno vegetale:

1) Attività antiossidante. La produzione di questa indolamina aumenta in condizioni di elevata esposizione a luce UV, con picchi massimi durante le ore di buio, suggerendo l'attivazione di un meccanismo di risposta della pianta al danno ossidativo causato dai raggi UV. Durante la fotosintesi, infatti, vengono prodotti elevati dosaggi di radicali liberi e specie reattive dell'ossigeno (ROS), tra cui il perossido di idrogeno (H_2O_2), l'ossigeno singoletto, il radicale idrossilico, l'anione superossido, l'anione perossido di azoto, l'ossido nitrico e le specie reattive dell'azoto (RNS), che vengono accumulati durante la notte. In seguito a tale interazione si formano metaboliti della melatonina, tra cui l'N-acetil-N-formil-metossi-kuramina (AFMK) e la N-acetil-5-metossi-kuramina (AMK) i quali possiedono anche loro attività antiradicalica. In tale contesto, infatti, la fitomelatonina giocherebbe il ruolo di *scavenger* dei radicali liberi proteggendo la pianta dallo stress ossidativo e dai danni causati alle macromolecole biologiche, analogamente al meccanismo animale (Tan *et al.*, 2007; Tan *et al.*, 2013). È stato stimato che una molecola di melatonina vegetale sia in grado di neutralizzare fino a 10 molecole di radicali liberi, a differenza di altri antiossidanti, i quali neutralizzano un solo radicale libero alla volta (Tan *et al.*, 2007).

2) Night signal. La melatonina vegetale traduce l'informazione proveniente dai fotorecettori, collocati nel meristema apicale, al resto della pianta (Tan *et al.*, 2013).

3) Regolazione del fotoperiodismo. I livelli di melatonina sono essenziali per la misurazione dell'intervallo del fotoperiodo, ed in modo particolare per la misurazione del tempo durante l'induzione fotoperiodica fiorale. Tale ormone, inoltre è coinvolto nella regolazione dei fenomeni circadiani come i movimenti

delle foglie, dei fenomeni giornalieri come la crescita della pianta stessa, e la germinazione del seme (Tan *et al.*, 2013).

4) Regolazione trascrizione genica. Recentemente è stata dimostrata la capacità della melatonina di intervenire nella trascrizione genica. Tale attività è esplicitata anche nelle piante, dove interagisce con il ciclo cellulare, probabilmente attraverso un'interazione con il citoscheletro. L'arrivo dello stimolo florale all'interno dell'apice vegetativo provoca un cambiamento sia dell'espressione genica che della morfologia, insieme ad una sincronizzazione dei cicli cellulari all'interno dell'apice stesso (Tan *et al.*, 2013).

5) Altri ruoli. Altri putativi ruoli attribuiti a questa molecola riguardano l'attività auxinica nella promozione della crescita della pianta e la protezione da stress ambientali, come elevate e basse temperature, e l'esposizione ad inquinanti del suolo e dell'acqua, sottolineando il ruolo di ormone vegetale che tale molecola possiede (Afreen *et al.*, 2006).

La distribuzione tissutale è importante per l'estrazione del principio attivo. La fitomelatonina si localizza nei semi, nelle radici, nei frutti e nelle foglie, con concentrazioni variabili da ng/g a µg/g nelle foglie, radici e semi ed in concentrazioni minori nei frutti (da µg/g a pg/g), in relazione al contenuto di acqua cellulare, alle caratteristiche ambientali ed al corredo genetico della pianta (Tan *et al.*, 2007). Sembra inoltre che le concentrazioni siano sostanzialmente più elevate nelle piante rispetto agli animali. In questi ultimi, infatti, la produzione di melatonina nel circolo periferico avviene seguendo un ben noto ritmo circadiano che prevede valori plasmatici massimi (dell'ordine di circa 50-200 pg/ml) durante le ore notturne e minimi durante quelle diurne (circa 2-10 pg/ml). Tale condizione fa sì che il regno vegetale sia una importante fonte di questo ormone (Tan *et al.*, 2007).

3. Estrazione

I metodi estrattivi, purificativi e quantitativi della fitomelatonina includono saggi radioimmunoenzimatici (ELISA), saggi radioimmunologici (Tab. 1), cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC) (Tabb. 2 e 3), e gas cromatografia di massa (GC-MS) (Reiter *et al.*, 2007).

La fitomelatonina corrisponde alla parte lipofila delle piante sottoposte a procedimento estrattivo, pertanto, in essa sono presenti molte sostanze aggiuntive, proprie di ciascuna pianta. Si riscontrano: acidi grassi (acido oleico, acido linoleico, acido linolenico, acido palmitico, acido stearico e acido miristico), fitosteroli, squaleni e tocoferoli.

3.1 Acidi grassi

Gli acidi grassi sono i principali costituenti delle membrane cellulari. L'acido oleico (acido cis-9-ottadecenoico) è un acido grasso monoinsaturo (C18:1) della serie omega-9 molto abbondante in natura nelle olive, nelle nocciole, nell'avocado, nelle mandorle, nella mostarda, nel latte vaccino e nelle arachidi (Wilson, 2012). A differenza degli acidi grassi polinsaturi, l'acido oleico essendo monoinsaturo è molto meno suscettibile ad essere ossidato, il che gli assicura una maggiore stabilità e ed una prolungata attività antiossidante. Sussistono ipotesi secondo cui il consumo quotidiano di acido oleico (soprattutto attraverso l'olio di oliva crudo 30 g/die) è importante nella prevenzione del cancro, come conseguenza delle sue proprietà antiossidanti (Waterman & Lockwood, 2007). Tale molecola, infatti svolge attività di *scavenger* dei radicali liberi e dei prodotti della perossidazione, tra cui la malondialdeide (MDA), coinvolta nei danni al DNA, ai mitocondri e nello sviluppo di mutazioni (Haug *et al.*, 2007). Studi in vitro hanno dimostrato che l'acido oleico isolato induce l'apoptosi delle cellule tumorali colon-rettali attraverso la down-regolazione della proteina anti-apoptotica Bcl-2 e della ciclossigenasi-2 (COX-2) coinvolta nella genesi della neoplasia del colon-retto (Llor *et al.*, 2003). Nelle cellule di carcinoma mammario l'acido oleico down-regola l'oncogene Her-2/neu, overespresso nel 20% dei tumori della mammella e interagisce sinergicamente con il trastuzumab (Herceptin®), un anticorpo monoclonale utilizzato nella terapia del cancro mammario (Menendez *et al.*, 2005). L'acido linoleico (o acido allcis-9,12-ottadecadienoico) è un acido carbossilico diinsaturo omega-6 (C18:2). Insieme agli altri acidi grassi omega-6 è un importante fattore di prevenzione della steatosi epatica poiché è grado di inibire la lipogenesi, attraverso l'inibizione del trasportatore CIC dell'acido citrico, coinvolto nel trasporto di tale molecola dai mitocondri al citosol dove avviene la biosintesi degli acidi grassi (Ferramosca & Zara, 2014). Inoltre, per ogni 5% di *intake* energetico di acido linoleico sussiste una riduzione del 10% del rischio di sviluppare malattie cardiovascolari, attraverso un meccanismo di riduzione delle placche aterosclerotiche nelle arterie. *The American Heart Association* sostiene che per proteggere la salute di cuore e arterie, gli acidi grassi omega-6 totali dovrebbero costituire il 5-10% dell'introito calorico giornaliero (Anton *et al.*, 2013); mentre uno studio condotto su 551 uomini di età avanzata ha evidenziato che la mortalità per malattie cardiovascolari è inversamente correlata all'*intake* di acido linoleico (Laaksonen *et al.*, 2005). Esistono inoltre studi clinici che dimostrano l'importanza degli acidi grassi mono e poli-insaturi nella prevenzione delle malattie autoimmuni, come l'artrite reumatoide (Haug *et al.*, 2007). L'acido palmitico (acido esadecanoico) è uno degli acidi grassi saturi (C16:0) più comuni negli animali e nelle piante. Diversi studi, attribuiscono a tale molecola un effetto aterogeno ed ipercolesterolemizzante, che incide negativamente sul rischio cardiovascolare. Lo stesso effetto negativo è

attribuito anche all'acido miristico (acido tetradecanoico – C14:0), ma non allo stearico (acido ottodecanoico – C18:0) (Ohlsson, 2010). Daumerie *et al.* (1992) hanno suggerito un coinvolgimento dell'enzima sterol-O-aciltransferasi (ACAT) nella regolazione delle concentrazioni di colesterolo plasmatico. Infatti tale enzima inibisce l'attività del recettore per il colesterolo LDL (LDL-R) e rappresenta un substrato debole per gli acidi grassi palmitico e miristico. Di conseguenza, essendo inibita la loro esterificazione, i livelli circolanti di colesterolo plasmatico risultano essere elevati, condizione aggravata anche dal fatto che i livelli del LDL-R sono ridotti; tale situazione, invece non si verifica per l'acido stearico, il quale essendo un substrato più affine per l'enzima ACAT viene convertito in una forma di colesterolo inerte. Inoltre l'acido stearico viene assorbito meno efficacemente (56,7%) rispetto agli acidi palmitico e miristico (90%), spiegando il perché risulta essere meno ipercolesterolemizzante. È stata osservata infatti una riduzione delle concentrazioni di tale acido grasso del 65% nella linfa, del 46% nella mucosa intestinale e del 66% nel lume rispetto agli altri due acidi grassi saturi, dopo somministrazione (Kritchevsky, 1994). Feldman *et al.* (1979) hanno verificato una significativa riduzione delle concentrazioni di colesterolo plasmatico dopo somministrazione di acido stearico, rispetto agli acidi palmitico e miristico. Kritchevsky & Tepper (1965) hanno inoltre riscontrato una riduzione del 17% di sviluppare aterosclerosi rispetto all'acido miristico e del 24% rispetto all'acido palmitico. L'acido palmitico e l'acido miristico, sono di per sé innocui, ma possono divenire pericolosi quando sono inseriti in un contesto di frequenti eccessi calorici o vengono assunti in quantità particolarmente elevate. Inoltre, un corretto bilanciamento tra acidi grassi saturi e polinsaturi è importante per prevenirne i rischi ad essi associati (Ohlsson, 2010).

3.2 Fitosteroli

I fitosteroli, molto abbondanti in semi, legumi e cereali, includono steroli e stanoli. L'associazione ad una dieta mediterranea e all'esercizio fisico viene considerato un valido metodo per il trattamento delle dislipidemie moderate e nella riduzione del colesterolo LDL. *The Adult Treatment Panel III* raccomanda 2 g/die di stanoli o steroli per mantenere a livelli fisiologici il colesterolo LDL e preservare la salute dal rischio cardiovascolare. Le proprietà regolative del colesterolo LDL ad opera dei fitosteroli sembrano essere dovute ad una regolazione dei recettori nucleari del colesterolo Srebp e lxr coinvolti nella rimozione del colesterolo biliare e alimentare dalle micelle duodenali, e nella sintesi di acidi grassi e colesterolo (*Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults*, 2011). Gylling *et al.* (2010) hanno dimostrato che l'assunzione giornaliera di 8,8 g di steroli vegetali riduce l'assorbimento di colesterolo LDL fino al 62%.

3.3 Squalene

Lo squalene è una molecola isoprenoide presente nell'olio di fegato degli squali ma anche nei vegetali come i semi di amaranto, crusca di riso, germe di grano e olive. Anche gli organismi animali producono squalene, inclusi gli esseri umani, dove costituisce un importante substrato per la sintesi degli steroidi. È strutturalmente simile al beta-carotene, alla Vitamina A, E, K e al coenzima Q10, per cui risulta essere altamente reattiva. Infatti, svolge attività di *scavenger* dei radicali liberi, in particolare protegge l'epidermide dalla perossidazione lipidica ad opera dell'ossigeno singoletto ed indotta dalla esposizione ai raggi UV (Kohn *et al.*, 1995).

Studi animali hanno dimostrato gli effetti dell'applicazione topica di squalene nella inibizione di tumori della pelle indotti da dimetilbenzoantracene. Il meccanismo antitumorale di tale molecola consisterebbe nella inibizione dell'HMG-CoA reduttasi, enzima coinvolto nella sintesi del colesterolo e nella genesi di intermedi (mevalonato, geranyl-pirofosfato e farnesil-profosfato) potenzialmente tossici (Newmark, 1999).

3.4 Tocoferoli

Il tocoferolo è un nutriente vitaminico essenziale e vitale per l'uomo, un potente antiossidante liposolubile, presente in molti vegetali, ad esempio nella frutta, nell'olio di canapa, nell'olio d'oliva e soprattutto nell'olio di germe di grano, inoltre il tocoferolo è uno dei principali composti della vitamina E. Le proprietà antinfiammatorie, antiossidanti e modulanti il colesterolo, fanno sì che i tocoferoli siano potenzialmente efficaci nella prevenzione del cancro, del diabete, delle malattie cardiovascolari e delle malattie neurodegenerative. Ridotti livelli di α -tocoferolo sono inversamente associati allo sviluppo di malattie delle arterie coronarie. Infatti uno studio condotto su 54 pazienti affetti da diabete mellito I ha riportato una correlazione inversa tra livelli di tale molecola $> 10,45 \mu\text{g/ml}$ e rischio di sviluppare malattie cardiovascolari (Sarmiento, 2013).

Nel meccanismo eziopatogenetico del cancro, i tocoferoli neutralizzano i radicali liberi e proteggono il DNA dalla perossidazione delle basi azotate, mentre nell'ambito del metabolismo lipidico tali molecole inibiscono l'enzima HMG-CoA reduttasi (Singh *et al.*, 2013).

In tale contesto risulta essere evidente che l'estratto vegetale contenente melatonina è altamente ricco di molecole antiossidanti, le quali, agendo sinergicamente potenziano l'effetto antiradicalico del composto, svolgendo un ruolo di prevenzione nei confronti di malattie infiammatorie, degenerative e metaboliche implicate nel fisiologico processo dell'invecchiamento.

Analogamente alle caratteristiche della fitomelatonina, la quale è insolubile in acqua e solubile nei solventi organici, il suo estratto si presenta sotto forma di liquido oleoso, dall'aspetto limpido e di colore giallo ambrato.

4. Melatonina e alimentazione

Esiste una correlazione positiva tra consumo giornaliero di vegetali ed i livelli di melatonina (6-sulfatossimetilammina – aMT6-s) nelle urine. Nagata *et al.* (2005) hanno verificato un aumento del 16% dei livelli urinari di tale molecola in 289 soggetti sani che hanno consumato un maggior quantitativo di vegetali. Analogamente Garrido *et al.* (2010) hanno riportato un aumento significativo dei livelli di aMT6-s nelle urine, del potere antiossidante totale nelle urine, un miglioramento della qualità del sonno ed una riduzione dei risvegli notturni in 12 adulti volontari sani dopo aver consumato per 3 giorni 200 g/die di ciliegie, presupponendo la somministrazione nutraceutica di tale alimento per il trattamento dei disturbi del sonno. Sae-Teaw *et al.* (2013) hanno misurato in 12 adulti volontari sani le concentrazioni sieriche di aMT6-s dopo aver consumato uno tra i seguenti frutti a colazione: 400 ml di succo d'ananas (melatonina: 150 pg/g) estratto da 1 kg di ananas (*Ananas comosus*), 500 ml di succo d'arancia (melatonina: 302 pg/g) estratto da 1 kg di arance (*Citrus reticulata*), 2 banane (melatonina: 8,9 pg/g) – *Musa sapientum*. È stato osservato un aumento delle concentrazioni sieriche di aMT6-s rispetto ai valori iniziali (prima di introdurre l'alimento) rispettivamente: 145 vs 40 pg/g ($p < 0,002$), 151 vs 40 pg/g ($p = 0,005$), 140 vs 32 pg/g ($p = 0,008$). Inoltre è stata riportata una correlazione positiva tra potere antiossidante totale (FRAP – *ferric-reducing ability of serum*) misurato nel sangue, e concentrazioni sieriche di aMT6-s ($p < 0,01$).

Laird & Drexel (1934) hanno riportato in un vecchio studio che il consumo frequente di un pasto a base di latte e cereali produce una maggiore tendenza ad avere un sonno notturno privo di risvegli. Brezinova & Oswald (1972) hanno riportato gli effetti del consumo serale di 250 ml di latte caldo + 32 g di polvere Horlicks (malto d'orzo e grano) nell'allungamento della durata del sonno e nella riduzione dei risvegli notturni in 18 anziani affetti da insonnia. Tuttavia non è stata dimostrata una correlazione univoca tra la melatonina contenuta in tali alimenti e le proprietà regolative dei ritmi circadiani, che potrebbero altresì essere influenzate da altre sostanze nutritive presenti.

Reiter *et al.* (2013) hanno dimostrato che l'integrazione della dieta di 16 topi con 11,3 g/die di noci per 18 settimane ha neutralizzato la massa tumorale di carcinoma prostatico in modo significativo. Infatti solo in 3/16 (18,7%) dei casi si è osservata la presenza di tumore rispetto al gruppo di controllo non trattato con tale integrazione dove l'incidenza tumorale è stata pari al 44% (14/32 casi). Inoltre nel gruppo trattato la massa tumorale aveva un peso medio di 4,7 mg, di contro al gruppo non trattato, il cui peso medio era pari a 38,5 mg. Tale alimento, oltre ad essere ricco di melatonina, è altresì costituito da acidi grassi omega 3, fitosteroli, γ -tocoferoli, carotenoidi e polifenoli i quali, attraverso la loro attività antiossidante, contribuiscono a

contrastare il meccanismo neoplastico. Precedentemente, Reiter *et al.* (2005) avevano studiato le concentrazioni di melatonina all'interno delle noci (*Juglans regia*) riportando valori pari a $3,5 \pm 1,0$ ng/g. La somministrazione giornaliera di 3,0-3,5 g/die di tale frutto in un gruppo di 12 ratti ha inciso sul livello totale di antiossidanti (TEAC – Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) e sul potere antiossidante (FRAP) del sangue, i quali sono aumentati significativamente ($p < 0,01$).

| Nome comune | Nome scientifico | Melatonina pg/g |
|-------------|--------------------------------|-----------------|
| Asparago | <i>Asparagus officinalis</i> | 10 |
| Fragola | <i>Pragaria magna</i> | 12 |
| Kiwi | <i>Actinidia chinensis</i> | 24 |
| Cocomero | <i>Cucumis sativus</i> | 25 |
| Cipolla | <i>Allium cepa</i> | 32 |
| Pomodoro | <i>Lycopersicon esculentum</i> | 32 |
| Ananas | <i>Ananas comosus</i> | 36 |
| Carota | <i>Paucas carota</i> | 55 |
| Cavolo | <i>Brassica oleracea</i> | 107 |
| Orzo | <i>Hordeum vulgare</i> | 378 |
| Zenzero | <i>Zinigiber officinale</i> | 584 |
| Riso | <i>Oryza sativa japonica</i> | 1006 |
| Granturco | <i>Zea mays</i> | 1366 |
| Avena | <i>Abena sativa</i> | 1796 |

Tab. 1 – Valori medi di melatonina in alimenti, rilevati con metodi radioimmunologici.

| Nome comune | Nome scientifico | Melatonina pg/mg |
|--------------|--|------------------|
| Patata | <i>Salanum tuberosum</i> | 0 |
| Barbabietola | <i>Beta vulgaris</i> | 9 |
| Cocomero | <i>Cucumis sativus</i> | 93 |
| Pomodoro | <i>Lycopersicon pimpinellifolium</i> | 167 |
| Pomodoro | <i>Lycopersicon esculentum</i> | 179 |
| Banana | <i>Musa sapientum</i> | 236 |
| Tabacco | <i>Nicotiana tabacum</i> (BEL-W3 foglie giovani) | 353 |

| | | |
|----------------|---|-----|
| Tabacco | <i>Nicotiana tabacum</i> (BEL-B foglie secche) | 480 |
| Tabacco | <i>Nicotiana tabacum</i> (BEL-W3 foglie secche) | 862 |

Tab. 2 – Valori medi di melatonina in diversi tessuti vegetali, rilevati con metodi HPLC-MS.

| Nome comune | Nome scientifico | Melatonina ng/g semi secchi |
|--------------------|----------------------------------|-----------------------------|
| Cardo | <i>Silybum marianum</i> | 2 |
| Papavero | <i>Popaver somniferum</i> | 6 |
| Anice | <i>Pimpinella anisum</i> | 7 |
| Coriandolo | <i>Coriandrum sativum</i> | 7 |
| Sedano | <i>Apium graveolens</i> | 7 |
| Lino | <i>Linum usitatissimum</i> | 12 |
| Cardamomo | <i>Elettaria cardamomum</i> | 15 |
| Erba medica | <i>Medicago sativum</i> | 16 |
| Finocchio | <i>Foeniculum vulgare</i> | 28 |
| Girasole | <i>Helianthus annuus</i> | 29 |
| Mandorla | <i>Prunum amygdalus</i> | 39 |
| Fieno greco | <i>Trigonella foenum-graecum</i> | 43 |
| Senape nera | <i>Brassica nigra</i> | 129 |

Tab. 3 – Valori medi di melatonina in semi di piante edibili, rilevati con metodi HPLC.

In Tab. 4 sono riassunti i risultati degli studi clinici relativi alla somministrazione di alimenti ricchi in melatonina.

| Alimento | Melatonina (pg/g) | Effetto | Bibliografia |
|---|-------------------|--|-------------------------------|
| Vegetali | | Aumento del 16% livelli di aMT6-s nelle urine | Nagata <i>et al.</i> (2005) |
| 200 g/die ciliegie | - | Aumento del potere antiossidante totale – FRAP (sangue), miglioramento qualità del sonno e riduzione risvegli notturni | Garrido <i>et al.</i> (2010) |
| 400 ml succo di ananas, 500 ml succo di arancia, 2 banane | 150, 302, 8,9 | Aumento concentrazioni sieriche di aMT6-s, aumento del potere antiossidante totale – FRAP (sangue) e correlazione positiva tra FRAP e aMT6-s | Sae-Teaw <i>et al.</i> (2013) |

| | | | |
|---|------|--|-----------------------------|
| 250 ml latte + 32 g di Horlicks® (bevanda al latte e malto d'orzo), noci (11,3 g/die) | - | Allungamento della durata del sonno e riduzione risvegli notturni | Brezinova & Oswald (1972) |
| noci (3,0-3,5 g/die) | 3500 | Riduzione incidenza tumorale e riduzione della massa tumorale (carcinoma prostatico) | Reiter <i>et al.</i> (2013) |
| | | Aumento significativo dei valori FRAP e TEAC (sangue) | Reiter <i>et al.</i> (2005) |

Tab. 4 – Studi clinici di somministrazione di alimenti ricchi in melatonina vegetale, concentrazioni ed effetti evidenziati.

5. Melatonina sintetica

5.1 Applicazioni

La presenza di recettori melatoninergici su svariati distretti corporei (nucleo sovrachiasmatico, cervelletto, talamo, ippocampo, corteccia cerebrale, apparato gastrointestinale, pelle, pancreas, cuore, arterie, rene, fegato, cistifellea, adipociti, cellule della granulosa dei follicoli ovarici, utero, cellule mammarie, prostata, tessuto linfoide, timo e milza) fa sì che la melatonina espliciti il suo meccanismo di azione regolando diverse funzioni fisiologiche dell'organismo (Karasek & Winczyk, 2006). Inoltre, essendo una piccola molecola lipofila è in grado di attraversare facilmente le membrane cellulari esplicando le proprie funzioni a livello cellulare e/o nucleare.

Tali presupposti favoriscono la somministrazione di integratori alimentari a base di melatonina per il trattamento di diverse condizioni patologiche qui di seguito riassunte (Tab. 5).

| Patologia | Posologia | Effetto | Bibliografia |
|-------------------------------------|------------------------------------|--|--------------------------------------|
| Ulcera gastrica | 10 mg/kg | Prevenzione ulcerogenesi | Sener-Muratoğlu <i>et al.</i> (2001) |
| Ulcera gastrica | 60 mg/kg | Prevenzione ulcerogenesi | Kleszczynski & Fischer (2012) |
| GERD | 6 mg/kg (+ L-triptofano 200 mg/kg) | Remissione sintomatologia (bruciore, vomito, disfagia, tosse, dolore al petto) | Pereira (2006) |
| Degenerazione neuronale | 10 mg/kg | Neurogenesi nel giro dentato ippocampale | Kim <i>et al.</i> (2004) |
| Degenerazione neuronale da ischemia | 4 mg/kg | Neurogenesi nel giro dentato ippocampale | Kilic <i>et al.</i> (2004) |

| | | | |
|------------------------|-------------------------------------|--|--|
| Malattia di Alzheimer | 6 mg/kg | Miglioramento delle capacità di memorizzazione | Brusco <i>et al.</i> (1998) |
| Malattia di Alzheimer | 9 mg/die | Miglioramento della qualità del sonno | Brusco <i>et al.</i> (2000) |
| Malattia di Alzheimer | 6 mg/die | Miglioramento della qualità del sonno, dell'umore e della memoria | Jean-Louis <i>et al.</i> (1998) |
| Malattia del Parkinson | 10 µM/die | Riduzione stress ossidativo | Miller <i>et al.</i> (1996) |
| Malattia del Parkinson | 50 mg/die | Miglioramento della qualità del sonno | Dowling <i>et al.</i> (2005) |
| Cancro | 5 mg/kg | Prevenzione di epatocarcinoma cellulare | Subramanian <i>et al.</i> (2007) |
| Cancro | 200 µg/die | Riduzione crescita tumorale (epatoma) | Blask <i>et al.</i> (1999) |
| Cancro | 20 µg/ml/die | Riduzione crescita tumorale (carcinoma pancreatico) | Perreau <i>et al.</i> , (2007) |
| Cancro | 20 mg/die | Aumento significativo della sopravvivenza a 5 anni (carcinoma del polmone non a piccole cellule) | Lissoni <i>et al.</i> (2003) |
| Cancro | 20 mg/die | No riduzione effetti tossici da radioterapia (metastasi cerebrali) | Berk <i>et al.</i> (2006) |
| Cancro | 20 mg/die | No effetti mieloprotettivi in chemioterapia (tumore del polmone a piccole cellule e a non piccole cellule) | Ghielmini <i>et al.</i> (1999) |
| Cancro | Cura di Bella (20 mg/die) | No significativi effetti terapeutici | Italian Study Group for the Di Bella Multi-therapy Trails (1999) |
| Cancro | 20 mg/die (+ tamoxifene 20 mg/die) | Risposta parziale nel 12% dei pazienti | Lissoni <i>et al.</i> (1996) |
| Cancro | 40 mg/die (+ IL-2 3 milioni IU/die) | Remissione completa tumore in 3/41 pazienti; regressione significativa della patologia | Lissoni <i>et al.</i> (1994) |
| Radiazioni ionizzanti | 0,5 – 1,0 – 2,0 mM | Riduzione 60% effetti genotossici | Vijayalaxmi <i>et al.</i> (1995) |
| Radiazioni ionizzanti | 300 mg | Riduzione effetti genotossici | Vijayalaxmi <i>et al.</i> (1998) |
| Radiazioni ionizzanti | 1076 mmol/kg | Aumento sopravvivenza del 43% | Blickenstaff <i>et al.</i> (1994) |
| Radiazioni ionizzanti | 125 mg/kg | Aumento sopravvivenza 60% | Kaya <i>et al.</i> (1999) |

| | | | |
|-----------------------|---------------|---|-------------------------------|
| Radiazioni ionizzanti | 250 mg/kg | Aumento sopravvivenza 85% | Kaya <i>et al.</i> (1999) |
| Radiazioni ionizzanti | 10-15 M | Aumento sopravvivenza 68% | Kim <i>et al.</i> (2001) |
| Invecchiamento | 40 ppm/die | Ripristino valori normali della lipocalina 2 | Perreau <i>et al.</i> (2007) |
| Diabete | 200 µg/kg | Aumento dell'attività dell'enzima superossido dismutasi (SOD) e glutazione perossidasi (GSH-Px). | Anwar & Meki (2003) |
| Diabete | 100-200 µg/kg | Normalizzazione dei livelli di glucosio ematico e riduzione dei valori di trigliceridi e colesterolo plasmatico | Montilla <i>et al.</i> (1998) |
| Ipertensione | 3 mg/die | Riduzione pressione arteriosa | Cagnacci <i>et al.</i> (2005) |
| Ipertensione | 2.5 mg/die | Riduzione pressione arteriosa | Scheer <i>et al.</i> (2004) |
| Edema | 5 e 50 mg/kg | Riduzione del diametro dell'edema | Padhy & Kumar, (2005) |
| Cataratta | 4 mg/die | Aumento dell'antiossidante GSH | Abe <i>et al.</i> (1994) |
| Cataratta | 4 mg/die | Riduzione incidenza cataratta ed aumento produzione GSH | Abe <i>et al.</i> (1994) |
| Cataratta | 4 mg/die | Riduzione della perossidazione lipidica (riduzione livelli MDA) e riduzione incidenza cataratta | Li <i>et al.</i> (1997) |

Tab. 5 – Principali applicazioni cliniche della melatonina vegetale sintetica, posologia ed effetti terapeutici evidenziati.

La melatonina vegetale è disponibile in capsule a immediato rilascio (*psyllium*), a lento rilascio (*osmotic-controlled release oral delivery system*) e come cerotto transdermico (Pearl *et al.*, 2011). Poiché non è stata approvata come farmaco, non esistono dosaggi standardizzati e certificazioni di qualità relative alle preparazioni commerciali (Sanders *et al.*, 1999). In letteratura vengono riportate posologie comprese tra 0,1 e 2 mg/die, sebbene una dose solitamente consigliata sia tra 2 e 5 mg/die. La biodisponibilità orale per l'assorbimento varia dal 10 al 15%, il suo metabolismo avviene attraverso il citocromo P450 epatico, mentre l'emi-vita di eliminazione varia da 30 a 50 minuti (Pearl *et al.*, 2011).

La somministrazione di melatonina purificata come integratore alimentare piuttosto che il prodotto vegetale in sé contenente l'ormone risulta essere più efficace poiché la molecola è presente in una concentrazione più elevata, e più sicuro dal punto di vista tossicologico, poiché si riduce la possibilità di intera-

zioni tra i principi attivi vegetali ed i sistemi biologici. Infatti, solitamente le erbe vegetali sono metabolizzate dal sistema di trasporto elettronico Glicoproteina-P (Pgp), la quale regola l'ingresso di sostanze nel cervello attraverso la barriera ematoencefalica. Esso esiste anche a livello della mucosa intestinale dove controlla l'assorbimento delle sostanze. Numerosi farmaci vengono regolati da questo complesso, per cui risulta evidente che la co-somministrazione potrebbe essere responsabile di effetti collaterali tossici (Pearl *et al.*, 2011).

5.2 Proprietà antiossidanti

5.2.1. Apparato gastrointestinale

La melatonina vegetale se consumata attraverso bevande liquide (Blask *et al.*, 2004) viene subito distribuita nel circolo ed assorbita attraverso la mucosa intestinale, dove altresì sono presenti numerosi recettori. Inoltre è stato riportato che nel tratto gastrointestinale sono presenti concentrazioni di melatonina circa 400 volte superiori a quelle presenti nella ghiandola pineale. Tale concentrazione si verifica in seguito alla sintesi dell'ormone nelle cellule enterocromaffini (EE) della mucosa gastrointestinale dopo l'ingresso del bolo alimentare nel tubo digerente. Questo fisiologico meccanismo fa presupporre il potenziale ruolo della melatonina nella protezione dallo stress ossidativo che si verifica nel tratto gastrointestinale (Konturek *et al.*, 2007).

Hattori *et al.* (1995) hanno riportato elevati livelli circolanti di tale molecola fino a 4 ore successive all'ingestione di alimenti ricchi, mentre Reiter *et al.* (2005) hanno evidenziato livelli raddoppiati di fitomelatonina nelle 4 ore successive all'ingestione in ratti che hanno consumato 3 g di noci (contenuto medio di fitomelatonina pari a 3,5 ng/g). Questi risultati hanno portato ad indagare le capacità antiossidanti di questa molecola sul sangue, come evidenziato dall'aumento del rapporto tra TEAC e FRAP. La sua assunzione orale, quindi, giocherebbe un ruolo rilevante nella prevenzione e nella protezione dal danno ossidativo a livello delle mucose del tratto gastrointestinale (Reiter *et al.*, 2007). Diversi studi hanno riportato le proprietà protettive di questa molecola nei confronti dell'ulcera gastrica indotta da aspirina ed indometacina. Sener-Muratoğlu *et al.* (2001) hanno dimostrato su ratti che omeprazolo (20 µmol/kg per os), famotidina (3 mg/kg per os) e melatonina (10 mg/kg per via intraperitoneale) significativamente preven- gono la ulcergenasi indotta da 200 mg/kg di acido acetilsalicilico. Kleszczynski & Fischer (2012) hanno evidenziato una riduzione significativa del danno ulcerativo nella mucosa gastrica di ratti, generato da 48 mg/kg di indometacina, dopo aver assunto 60 mg/kg di melatonina intraperitoneale, attraverso un meccanismo di down regolazione delle metalloproteinasi-9 (MMP-9), enzimi prodotti dai macrofagi per attivare la cascata di segnali che portano alla produzione di ROS. Inoltre, poiché la sua attività antiossidante aumenta in sinergia con la presenza di Vitamina E e/o C, sarebbe importante la sua assunzione attraverso alimenti altresì ricchi di tali vitamine. Una formulazione a base di 6 mg di melatonina,

200 mg di L-triptofano, 25 mg di vitamina B6, 10 mg di acido folico, 50 µg di vitamina B12, 100 mg di metionina e 100 mg di betaina somministrata per 40 giorni in 176 pazienti, si è dimostrata valida nel trattamento della sindrome da reflusso gastroesofageo (GERD) nella completa remissione della sintomatologia (bruciore, vomito, disfagia, tosse e dolore al petto) (Pereira, 2006).

5.2.2. Cute

In campo dermatologico-estetico, preparati a base di fitomelatonina vengono utilizzati per trattamenti *anti-ageing*, poiché questa molecola diminuisce lo stress ossidativo, aumenta la resistenza delle membrane dei capillari, e migliora la microcircolazione cutanea assicurando la continua nutrizione delle fibre elastiche (Kleszczynski & Fischer, 2012).

5.2.3 Sistema nervoso

La melatonina è anche coinvolta nella regolazione del sistema nervoso, ed i suoi livelli (Fig. 3) e l'espressione dei recettori MT_1 , MT_2 ed MT_3 si riducono con l'invecchiamento e nelle malattie neurodegenerative, seguendo altresì un ciclo circadiano. A livello neurologico, la fisiopatologia dell'invecchiamento prevede *deficit* cognitivi, della memoria, dell'apprendimento, del linguaggio e del movimento correlati con l'incremento del danno ossidativo e dei processi infiammatori che si verificano a carico delle cellule nervose. Una marcata degenerazione assonica, una riduzione del volume dendritico e delle sinapsi, infatti, si verificano durante l'invecchiamento soprattutto nei neuroni piramidali della corteccia prefrontale e nell'ippocampo, aree coinvolte con la plasticità neuronale, alla base dei processi prima citati.

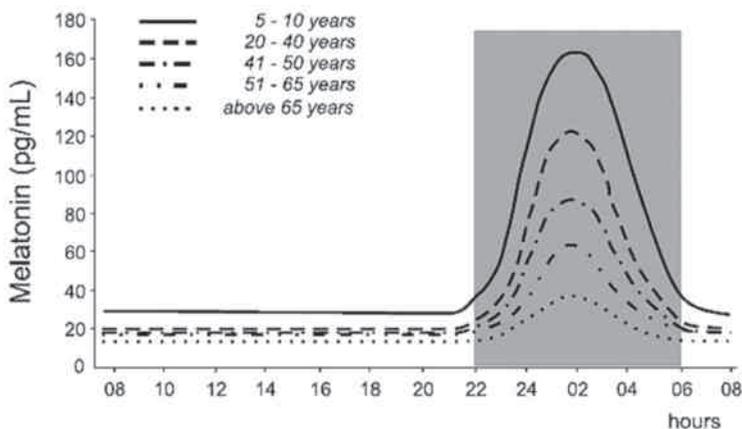


Fig. 3 – Profilo circadiano delle concentrazioni sieriche di melatonina nell'uomo in diverse fasce di età. L'area grigia corrisponde alle ore di buio (Karasek & Winczyk, 2006).

Lo stress ossidativo infatti è in grado di alterare l'omeostasi del calcio, importante per un corretto assetto dei meccanismi plastici, attraverso una disregolazione dei canali del calcio, della rianoidina, canali IP3, ed i recettori NMDA del glutammato. Anche la neurotrasmissione viene alterata con l'invecchiamento, attraverso modificazioni delle innervazioni serotoninergiche nell'ippocampo e dopaminergiche nello striato. In tale contesto giocherebbe un ruolo rilevante la melatonina vegetale come *scavenger* dei radicali liberi. La melatonina promuove l'espressione di Nrf 2 (*nuclear factor erythroid 2-related factor 2*) coinvolto nell'espressione di geni antiossidanti, ed inibisce l'espressione della COX-2 e di NFkB, coinvolti nella conversione dell'acido arachidonico in prostaglandina H2 durante i processi infiammatori. Inoltre è stato supposto che la riduzione dei livelli di melatonina sono responsabili dell'aumento dei valori della sirtuina 1, una molecola coinvolta nella genesi dei fenomeni tumorali correlati con l'invecchiamento (Sarlak *et al.*, 2013).

La melatonina è altresì coinvolta nella neurogenesi e nel differenziamento delle cellule staminali neuronali. Kim *et al.* (2004) hanno dimostrato su 14 ratti che la somministrazione intraperitoneale di 10 mg/kg di melatonina per 7 giorni è in grado di aumentare significativamente la neurogenesi nel giro dentato ippocampale, mentre 4 mg/kg per 29 giorni di somministrazione orale si sono dimostrate valide nella promozione della neurogenesi dentata in 21 ratti ischemizzati (Kilic *et al.*, 2008). Le proprietà antiinfiammatorie, invece, sono attribuite alla inibizione di citochine ed enzimi pro-infiammatori. Una soluzione 1 nM di melatonina in vitro ha ridotto significativamente i livelli di TNF α , IL-1 B, IL-6 e iNOS, over espressi per la presenza di metanfetamine (Sarlak *et al.*, 2013).

Integratori a base di melatonina vegetale, vengono altresì consigliati nella terapia della malattia di Alzheimer, caratterizzata dalla deposizione sulle fibre nervose di placche di β -amiloide, una proteina che genera di conseguenza alterazione della trasmissione sinaptica, infiammazione e produzione di ROS. Brusco *et al.* (1998) hanno somministrato a due gemelli monozigoti di 79 anni affetti da malattia di Alzheimer da 8 anni 6 mg di melatonina/die osservando una minore perdita di memoria dopo 36 giorni di terapia. Successivamente gli stessi autori hanno studiato il miglioramento della qualità del sonno in 14 pazienti Alzheimer che hanno ricevuto 9 mg/die di melatonina vegetale per 22-35 mesi (Brusco *et al.*, 2000). Jean-Louis *et al.* (1998) hanno verificato un miglioramento dell'umore, del sonno e della memoria dopo 10 giorni di terapia integrata con 6 mg/die di fitomelatonina. Il ruolo di tale ormone nel miglioramento della qualità del sonno sarebbe responsabile di un maggiore consolidamento della memoria. Infatti, recettori per la melatonina sono presenti a livello dei nuclei soprachiasmatici dell'ipotalamo, responsabile della regolazione del ciclo sonno-veglia. In tale contesto, l'attivazione dei recettori melatoninergici favorirebbe la fase di sonno (Cornu *et al.*, 2010). Tale meccanismo, inol-

tre risulta essere alterato nell'invecchiamento, in condizioni patologiche ed in presenza di dolore cronico, in cui si verifica un deficit della produzione di melatonina endogena ed una riduzione dei suoi recettori (Gooneratne, 2008). Nel 2002 uno studio condotto da *National Health Interview Survey* (NHIS) negli USA ha riportato che la melatonina è al quinto posto tra le erbe utilizzate per il trattamento dei disturbi del sonno (Bliwise *et al.*, 2007). Inoltre, mentre i primi studi suggerivano elevati dosaggi di melatonina vegetale (5-10 mg/die) per il trattamento dei disturbi del sonno, studi più recenti consigliano di abbassare notevolmente la posologia (0,1-2,5 mg/die) per mimarne le concentrazioni fisiologiche (Shimazaki & Martin, 2007). Esistono studi circa il ruolo della melatonina nella malattia del Parkinson, una condizione patologica neurodegenerativa caratterizzata da una marcata riduzione dei livelli dopamina a seguito della distruzione dei neuroni della *substantia nigra* striatale. In tale contesto, la melatonina (10 μ M) agendo da *scavenger* dei radicali liberi sarebbe in grado di ridurre il danno ossidativo cellulare, senza però rallentare il decorso della malattia (Miller *et al.*, 1996). Successivamente Dowling *et al.* (2005) hanno verificato in 40 pazienti colpiti dal Parkinson, un significativo miglioramento della qualità del sonno, comprovato da scale cliniche standardizzate: *Epworth Sleepiness Scale* (ESS), *Stanford Sleepiness Scale* (SSS), *General Sleep Disturbance Scale* (GSDS) – dopo somministrazione orale di 50 mg/die di melatonina per 2 settimane.

5.3 Cancerogenesi

La IARC (*International Agency for Research on Cancer*) ritiene essere la disregolazione dei ritmi circadiani uno dei putativi fattori eziologici del cancro (Sharman *et al.*, 2011). La melatonina, viene invece considerata una molecola anti-cancro poiché è in grado di modulare alcuni geni coinvolti con i meccanismi di senescenza cellulare, con i meccanismi di riparo dei danni al DNA, con i meccanismi immunitari e con la prevenzione dei geni correlati con l'infiammazione. La somministrazione orale di 5 mg/kg di melatonina è risultata essere efficace nella prevenzione di epatocarcinoma cellulare indotto in 24 ratti trattati con N-ditrosietilammina/ CCl_4 (Subramanian *et al.*, 2007) mentre 200 μ g/die per 32 giorni ha ridotto significativamente ($p < 0,05$) la crescita tumorale (epatoma) nel topo (Blask *et al.*, 1999). Un gene coinvolto con la cancerogenesi è la glicoproteina lipocalina 2 (lcn2, ngel). Elevati livelli di questa proteina sono associati ad una vasta gamma di cancro umani, tra cui il cancro rettale, pancreatico, ovarico, tiroideo e mammario. È stato riportato che una integrazione orale di 40 ppm di melatonina per 9 settimane ristabiliscono i livelli di questa glicoproteina in 1 topo anziano riportandoli ai valori che ci sono durante la giovane età (Perreau *et al.*, 2007). Infine una integrazione orale di 20 μ g/ml/die per 12 settimane ha ridotto significativamente la massa tumorale nel carcinoma pancreatico nel modello murino (Perreau *et al.*, 2007).

La riduzione dell'espressione genica di lipocaina 2 che si verifica in parallelo al consumo di melatonina viene correlata inoltre ad una riduzione della incidenza tumorale (Yang *et al.*, 2009). TiPAR è un altro gene coinvolto la cui espressione si riduce con l'invecchiamento e nelle cellule tumorali. La melatonina è in grado ripristinare i valori standard come dimostrato su linea cellulare di carcinoma squamocellulare del collo (Kato & Kato, 2003). L'attività anti cancro della melatonina prevede meccanismi antiproliferativi ed apoptotici, attraverso la interazione con il recettore nucleare RZR/ROR, coinvolto nell'attivazione della morte cellulare programmata (Karasek & Winczyk, 2006).

Lissoni *et al.* (2003) hanno dimostrato che la somministrazione orale di 20 mg/die in 100 pazienti affetti da tumore del polmone non a piccole cellule in chemioterapia (cisplatino) aumenta significativamente la sopravvivenza a 5 anni ($p < 0,01$) rispetto al gruppo di controllo non trattato. Berk *et al.* (2006) in uno studio clinico di fase II hanno invece somministrato 20 mg/die di melatonina in 2 pazienti con metastasi cerebrali in radioterapia (30 Gy in 10 frazioni) per valutare la sopravvivenza delle cellule sane, senza però ottenere dei risultati significativi. In un altro studio clinico condotto su 20 pazienti affetti da tumore del polmone a piccole cellule e non a piccole cellule, in chemioterapia (carboplatino + etoposide fosfato) sono stati somministrati oralmente 20 mg/die di melatonina per 21 giorni ma non si è verificato alcun effetto mieloprotettivo (tossicità su emoglobina, neutrofili e piastrine) (Ghielmini *et al.*, 1999). Nel 1998, uno studio multicentrico condotto in Italia su 386 pazienti affetti da 8 diversi tipi di tumore ha voluto valutare l'efficacia della nota Cura Di Bella (melatonina 20 mg/die orale, bromocriptina 25 mg/die subcutanea, somatostatina 3 mg/die orale, ocreotide 1 mg/die subcutanea, acido retinoico 7 g/die orale). Solamente 3 pazienti hanno riportato una parziale remissione della sintomatologia (1/32 linfoma non di Hodgkin; 1/33 cancro della mammella, 1/29 cancro del pancreas). 47 pazienti (12%) hanno ottenuto una stabilità della loro patologia, mentre 199 (52%) un peggioramento e 97 (25%) sono morti. Tali risultati non hanno conferito fiducia a tale metodologia terapeutica (*Italian Study Group for the Di Bella Multi-therapy Trails*, 1999). Lissoni *et al.* (1996) in un altro studio hanno valutato l'efficacia della combinazione di tamoxifene (20 mg/die) e melatonina (20 mg/die) somministrati oralmente in 25 pazienti affetti da tumori solidi in metastasi incurabili (cancro ovarico, melanoma, carcinoma della cervice uterina, epatocarcinoma, carcinoma polmonare non a piccole cellule ed un tumore non identificato). Tale trattamento ha riportato una risposta parziale nel 12% dei casi (3 pazienti: melanoma, cervice uterina, tumore non identificato), una stabilizzazione della patologia in 13 pazienti ed un peggioramento in 9 pazienti. La sopravvivenza ad un anno è stata raggiunta in 7 pazienti (28%). Tale studio clinico di fase II suggerisce che la combinazione di tamoxifene e melatonina può sortire effetti benefici nel trattamento di tumori solidi in metastasi, non curabili. Gli stessi autori avevano preceden-

temente saggiato l'efficacia di un trattamento a base di IL-2 (3 milioni IU/die sottocutanea) e melatonina (40 mg/die orale) per 4 settimane in 41 pazienti affetti da tumori solidi, cancro renale e melanoma rispetto a 39 pazienti trattati con solo IL-2 (stesso dosaggio). È stato verificato una risoluzione completa del tumore dopo 1 mese in 3/41 pazienti, ed una regressione parziale (riduzione del 50% della massa tumorale) significativamente più elevata nei pazienti con terapia combinata rispetto alla monoterapia con IL-2 (19/41 vs 6/39 pazienti $p < 0,05$). Infine un aumento significativo di eosinofili e linfociti si è verificato nei pazienti trattati con melatonina ($p < 0,05$). Gli autori ritengono che la somministrazione di melatonina aumenta l'efficacia terapeutica della IL-2 somministrata sottocute (Lissoni *et al.*, 1994).

5.4 Radioprotezione

L'attività antiradicalica della melatonina ha proposto la sua protezione dalla esposizione a radiazioni ionizzanti, in cui elevati livelli di radicali liberi sono generati e sono responsabili di danni citotossici e genotossici. Vijayalaxmi *et al.* (1995) hanno dimostrato in vitro, che esponendo colture di cellule linfocitarie umane a 150 cGy di radiazioni ionizzanti per 20 minuti si verificava un aumento significativo del danno al DNA (aberrazioni cromosomiche, formazioni di micronuclei e frammentazioni acentriche). Tali danni, si riducevano del 60% se le cellule venivano pretrattate con concentrazioni scalari (0,5 – 1,0 – 2,0 mM) di melatonina. Gli stessi autori in un altro studio hanno prelevato aliquote di sangue in pazienti volontari sani che avevano ricevuto una singola dose orale di melatonina (300 mg). I linfociti sono stati successivamente esposti a 150 cGy di radiazioni gamma ed hanno presentato una riduzione dei danni al DNA (aberrazioni cromosomiche 53-62% e presenza di micronuclei 56-63%) rispetto alla esposizione in assenza di somministrazione di melatonina (Vijayalaxmi *et al.*, 1998). Blickenstaff *et al.* (1994) hanno dimostrato un aumento della sopravvivenza del 43% in topi esposti a 950 cGy di radiazioni ionizzanti, i quali morivano già dopo 12 giorni di esposizione. Il trattamento con melatonina (1076 mmol/kg) ha permesso la sopravvivenza per almeno 30 giorni dopo la cessazione dell'esposizione. Kaya *et al.* (1999) hanno riscontrato nei ratti un aumento della sopravvivenza del 60% dopo somministrazione di 125 mg/kg di melatonina e dell'85% con 250 mg/kg dell'ormone, in seguito ad esposizione a 815 cGy di radiazioni. Il meccanismo citoprotettivo espletato dalla melatonina sarebbe basato sulla neutralizzazione dei radicali liberi e sulla attivazione degli enzimi responsabili del riparo dei danni al DNA. Kim *et al.* (2001) hanno verificato il danno causato dalla esposizione di fibroblasti umani a 8 Gy di raggi X, tradotto in aumento della perossidazione lipidica delle membrane cellulari per aumento dei livelli della MDA, responsabile della apoptosi del 63% delle cellule irradiate (sopravvivenza del 37%). Aggiungendo in coltura 10-15 M (unità di concentrazione molare) di melatonina si è osservato un aumento della sopravvivenza cellulare fino al 68%.

5.5 Metabolismo del glucosio

La melatonina ha anche effetti regolativi sul metabolismo glucidico. Akmal *et al.* (2010) hanno verificato che 5 mg/kg/die di melatonina somministrata oralmente per 15 giorni è in grado di prevenire il danno metabolico causato da 40 mg di streptozacina in 12 ratti, e di normalizzare i livelli di glucosio, trigliceridi, colesterolo ed enzimi epatici (esochinasi, glucochinasi, glucosio-6P deidrogenasi) nel ratto diabetico. Analogamente Anwar & Meki (2003) somministrando 200 µg/kg di melatonina per 15 giorni hanno verificato un aumento dell'attività dell'enzima superossido dismutasi (SOD) e glutazione perossidasi (GSH-Px) in 57 ratti diabetici. 100-200 µg/kg di melatonina normalizzano i livelli di glucosio ematico in ratti diabetici e riducono i valori di trigliceridi e colesterolo plasmatico (Montilla *et al.*, 1998).

5.6 Sistema cardiovascolare

Diversi studi supportano una relazione tra melatonina e pressione sanguigna, in particolare sono stati riportati livelli sierici inferiori di melatonina in soggetti ipertesi (Nahas, 2008). Uno studio è stato condotto su 18 pazienti ipertesi trattati farmacologicamente con ACE inibitori, i quali hanno ricevuto oralmente 3 mg di melatonina/die per 3 settimane, riportando un modesto abbassamento della pressione sanguigna (3,77/3,63 mmHg; $p = 0,013$) (Cagnacci *et al.*, 2005). Mentre 16 pazienti ipertesi non trattati farmacologicamente dopo aver assunto 2,5 mg/die di melatonina per 3 settimane hanno riportato una riduzione significativa della pressione sanguigna (6/4 mmHg; sistolica: $p = 0,046$, diastolica: $p = 0,020$) (Scheer *et al.*, 2004).

5.7 Sistema immunitario

La melatonina è in grado di modulare il sistema immunitario sia attraverso recettori cellulari che nucleari localizzati in membrana. Una riduzione dei valori fisiologici sono responsabili della depressione della risposta cellulare ed umorale attraverso l'inibizione della produzione di citochine. Infatti, recettori melatoninergici MT_3 sono localizzati in diverse cellule umane dell'immunità tra cui monociti, linfociti B, linfociti *natural killer*, linfociti T *helper* e linfociti T citotossici. Nei linfociti B la melatonina legandosi ai recettori nucleari RZR/ROR è in grado di down-regolare l'espressione della 5-lipossigenasi, coinvolta con l'attivazione di meccanismi infiammatori, tra cui i processi fisiopatologici dell'asma e dell'artrite (Karasek & Winczyk, 2006).

5.8 Apparato riproduttivo

La melatonina regola il ciclo riproduttivo legato alla stagionalità. Una condizione di pubertà precoce viene associata a sbilanciamenti nelle concentrazioni di tale ormone (Karasek & Winczyk, 2006); un aumento significativo ($p < 0,05$) delle concentrazioni di tale ormone si verificano in condizioni di infer-

tilità maschile e di ipogonadismo ipogonadotropo (5 volte più elevati; 6 casi) (Puig-Domingo *et al.*, 1992). Al contrario, l'ipogonadismo ipergonadotropo (6 casi) è correlato a una ridotta secrezione ($p < 0,001$) di ormone (Luboshitzky *et al.*, 1997).

5.9 Altre patologie

Alterazioni delle concentrazioni di melatonina sono inoltre correlate a diversi disordini psichiatrici, tra cui la depressione maggiore, il disturbo bipolare, cefalea, attacchi di panico, disturbo ossessivo compulsivo, schizofrenia, disordini alimentari. Sono inoltre citate cirrosi epatica, insufficienza cronica renale, psoriasi (Karasek & Winczyk, 2006).

Sono state anche valutate le proprietà antiedematose della melatonina (5 e 50 mg/kg iniezione sottocutanea) in ratti con reazione infiammatoria indotta. È stata osservata una riduzione significativa del diametro dell'edema già dopo 15 minuti, con azione massima dopo 1 ora e mantenimento fino a 2 ore, sia al dosaggio di 5 mg/kg ($p < 0,05$) che a 50 mg/kg ($p < 0,01$). L'attività antinfiammatoria della melatonina avverrebbe tramite inibizione degli enzimi COX-2 e iNOS e delle citochine pro-infiammatorie TNF α e IFN γ coinvolte in tale processo (Padhy & Kumar, 2005).

Inoltre nell'ambito dei trattamenti proposti dalla *Complementary and Alternative Medicine* (CAM) ritiene che la melatonina vegetale sia un importante antiossidante nella prevenzione della cataratta, poiché protegge il cristallino dal danno ossidativo causato dai raggi UVB. In particolare iniezioni di 4 mg/die per una settimana in ratti hanno determinato un significativo ($p < 0,001$) aumento dell'antiossidante GSH; 4 mg/kg per 16 giorni iniettati intraperitonealmente nei ratti hanno prodotto una incidenza del 6,2% dello sviluppo di cataratta (1 caso su 15) ed un aumento del 3% del GSH rispetto al gruppo di controllo, non trattato (Abe *et al.*, 1994). Infine, Li *et al.* (1997) hanno riportato una riduzione della perossidazione lipidica (riduzione dei livelli della MDA; $p < 0,001$) nell'occhio, nel cervello, nel fegato, nei polmoni e nei reni, in 18 ratti che hanno ricevuto per 17 giorni 4 mg/die di melatonina intraperitonealmente con una incidenza di cataratta del 7% (3 casi su 18).

6. Melatonina nei fitocomplessi

Studi sperimentali circa il ruolo di estratti vegetali contenenti melatonina ed implicati nella regolazione dello stress ossidativo non sono stati molto approfonditi in letteratura (Tab. 6). È necessario quindi espandere tali ricerche al fine di ottenere più informazioni riguardo gli effetti e le relazioni rischio-beneficio.

Singh *et al.* (2002) hanno confrontato in un modello di topo affetto da sindrome da fatica cronica gli effetti antiossidanti di una terapia a base di melatonina sintetica (5 mg/kg) + carvedilolo (5 mg/kg) somministrati intraperito-

nealmente rispetto ad una preparazione a base di *Withania somnifera* (100 mg/kg) + quercetina (50 mg/kg) + Erba di San Giovanni (*Hypericum perforatum* L. – 10 mg/kg), somministrati per via orale. I risultati non hanno dimostrato differenze significative. Infatti, in entrambi i trattamenti, si è ottenuta una riduzione della perossidazione lipidica (aumento dei livelli intracerebrali del GSH, aumento dei valori degli enzimi antiossidanti, tra cui la SOD, e la catalasi). Chen *et al.* (2003) hanno analizzato più di 100 erbe medicinali cinesi nella ricerca e quantificazione della melatonina, riportando la presenza di 64 tipologie contenenti livelli di melatonina superiori a 10 ng/g di massa secca (Tab. 7). È stato riportato inoltre che *yinyanghuo* (*Epimedium brevicornum*) – melatonina 1105 ng/g e *sangbaipi* (*Morus alba*, corteccia) – melatonina 1100 ng/g sono tipicamente utilizzate per rallentare il processo fisiologico dell'invecchiamento, tramite attività antiradicalica; e *sangye* (*Morus alba*, foglia) – melatonina 1510 ng/g viene considerata possedere effetti benefici in risposta al danno ossidativo causato dai raggi UV o dalla radioterapia. La valeriana, è una delle erbe con maggiori effetti ipnotici. Esistono circa 250 specie e la *Valeriana officinalis* è la specie più comunemente utilizzata. È stato riportato che dosaggi tra 400 e 900 mg/die di tale specie producono effetti ipnotici a partire dal 28° giorno di somministrazione, probabilmente funzionando come agonista del GABA. È stata riferita, tuttavia, cefalea come evento avverso. La Kava, invece, viene comunemente utilizzata per il controllo dell'ansia (60-240 mg/die), funzionando probabilmente come depressivo del Sistema Nervoso Centrale. La *German Commission E* raccomanda di non utilizzare tale erba per più di 3 mesi consecutivi. Effetti avversi sono stati infatti riferiti dopo trattamento a lungo termine, tra cui perdita di peso, disfunzioni renali ed epatiche e anomalie ematologiche (Chung & Lee, 2002). In Tab. 8 sono invece elencate le concentrazioni di melatonina nelle principali piante officinali alpine e del Mediterraneo.

Uno studio condotto da Addonisio & Canitano (2006), presentato al 9° Congresso Internazionale della Società Italiana di Medicina e Chirurgia Estetica, ha dimostrato le proprietà *anti-ageing* dell'olio di fitomelatonina® estratto da *Avena sativa*, *Achillea millefolium* e *Salvia officinalis*, in un gruppo di 43 donne con evidenti tratti di invecchiamento sulla cute del viso. Il trattamento, effettuato in sinergia con la tecnica della diatermia termica (FIS) con cadenza bisettimanale per 6 settimane, ha riportato un oggettivo miglioramento strumentale della cute del viso.

Inoltre, uno studio condotto da ricercatori dell'Università di Ferrara ha comprovato le proprietà antiossidanti, idratanti, fotoprotettive e la dermocompatibilità dello stesso estratto. L'attività antiossidante delle componenti lipofila ed idrofila di tale estratto, studiata in vitro, è stata valutata mediante il metodo di chemoluminescenza (PCL) ed il dosaggio ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*). L'attività antiossidante è risultata essere pari a $1,5 \pm 0,101$ μmol acido ascorbico/g (componente idrofila) e a $1,87 \pm 0,015$ (com-

ponente lipofila). Il TAP (potere antiossidante totale) mediante PCL è stato di $1,73 + 0,015$ (valore paragonabile con TAP di olio di girasole: $1,73 + 0,030$ ed olio di enotera: $1,88 + 0,030$). I valori di TAP, di contro, analizzati con saggio ORAC hanno rivelato una attività antiossidante ($13,50 \mu\text{mol trolox/g}$) della fitomelatonina® molto simile a quella dell'olio di oliva ($11,5 \mu\text{mol trolox/g}$). Il grado di idratazione cutanea a breve termine è stato testato su pazienti sani, attraverso l'identificazione del contenuto idrico dello strato corneo, previa applicazione di $0,1 \text{ ml}$ di prodotto sull'avambraccio e confronto con un'area cutanea non trattata. I risultati hanno riportato un aumento significativo ($p < 0,05$) della idratazione cutanea dopo 15 minuti dall'applicazione che permane fino alla fine dell'analisi (150 minuti). L'attività foto protettrice (indicazione fattore SPF – fattore di protezione solare), valutata in vitro, ha riportato l'appartenenza di tale composto alla classe dei filtri a bassa protezione (SPF 1,3). Infine il prodotto si è dimostrato essere privo di potenzialità irritativa (*patch test*).

| Patologia | Fitocomplesso | Effetto | Bibliografia |
|-----------------------------------|---|---|-----------------------------|
| Sindrome da fatica cronica | <i>Withania somnifera</i> (100 mg/kg) + quercetina + <i>Hypericum perforatum</i> (10 mg/kg) | Riduzione dello stress ossidativo intracerebrale | Singh <i>et al.</i> (2002) |
| Insomnia | Valeriana (400-900 mg/die) | Ipnotico | Chung & Lee (2002) |
| Ansia | Kava (60-240 mg/die) | Riduzione stato d'ansia | Chung & Lee (2002) |
| Invecchiamento | Fitomelatonina® | Miglioramento parametri strumentali della cute del viso | Addonizio & Catinano (2006) |

Tab. 6 – Principali applicazioni cliniche di estratti vegetali contenenti melatonina, posologia ed effetti terapeutici evidenziati.

7. Tossicità ed effetti collaterali

La supplementazione con melatonina vegetale viene ritenuta sicura dal punto di vista tossico e della presenza di effetti collaterali.

Per quanto riguarda gli effetti sulla durata della vita e sull'incidenza di fenomeni tumorali, sono stati ottenuti risultati contrastanti. Romanenko (1983) ha dimostrato che la somministrazione sottocutanea di 80 mg/kg/die di melatonina in topi per 2 volte settimana per 5 mesi ha prodotto morte degli animali dopo 19 mesi per cause oncologiche mentre i controlli non trattati sono sopravvissuti fino a 22 mesi. Circa il 98% degli animali trattati ha sviluppato leucemia, mentre nei controlli la percentuale di incidenza era stata del 32%. Lo stesso autore ripetendo lo stesso protocollo sperimentale, riducendo però il trattamento a 2,5 mesi, ha riportato morte degli animali a 13,6 mesi, mentre nei controlli si raggiungevano i 15 mesi di età. Pierpaoli & Mastroni (1987),

al contrario, hanno riportato un allungamento del 20% dell'età media dei topi trattati con melatonina 10 mg/l per 5 mesi somministrata oralmente in una soluzione liquida, rispetto ai controlli non trattati. Pierpaoli *et al.* (1991) in un altro studio hanno invece riportato un aumento della incidenza tumorale (linfoma, reticulosarcoma e tumore delle ovaie) dopo somministrazione orale di 10 mg/l di melatonina disciolta in una bevanda in 33 ratti. Anche Lenz *et al.* (1995) hanno verificato un significativo aumento ($p < 0,001$) della incidenza tumorale (linfoma e adenocarcinoma polmonare) dopo la somministrazione di 20 mg/die di integratori a base di melatonina ($n= 30$).

| Nome comune | Nome scientifico | Melatonina ng/g |
|----------------|--------------------------------|-----------------|
| Chantui | <i>Periostracum cicadae</i> | 3771 |
| Diding | <i>Viola philippica</i> | 2368 |
| Gouteng | <i>Uncaria rhyncophylla</i> | 2460 |
| Shiya tea-leaf | <i>Babreum coscluea</i> | 2120 |
| Sangye | <i>Morus alba (foglia)</i> | 1510 |
| Huangbo | <i>Phellodendron amurense</i> | 1235 |
| Sangbaipi | <i>Morus alba (corteccia)</i> | 1110 |
| Yinyanghuo | <i>Epimedium brevicornum</i> | 1105 |
| Huanglian | <i>Coptis chinensis</i> | 1008 |
| Dahuang | <i>Rheum palmatum</i> | 1078 |
| Yuanzhi | <i>Poligala tenuifolia</i> | 850 |
| Shanyurou | <i>Cornus officinalis</i> | 821 |
| Longdacao | <i>Gentiana scabra</i> | 780 |
| Luxiancao | <i>Pirola decorata</i> | 750 |
| Danghui | <i>Angelica sinensis</i> | 698 |
| Sanjisheng | <i>Taxillus chinensis</i> | 648 |
| Fuling | <i>Poria cocos</i> | 585 |
| Gouqi | <i>Lycium barbarum</i> | 530 |
| Bihu | <i>Gekko japonicus</i> | 523 |
| Luhui | <i>Aloe vela</i> | 516 |
| Chuanxinlian | <i>Andrographis paniculats</i> | 511 |
| Duzhong | <i>Eucommia ulmoides</i> | 497 |
| Laifuzi | <i>Raphanus sativus</i> | 485 |
| Dingxiang | <i>Syzygium aromaticum</i> | 446 |
| Fupenzi | <i>Rubus chingii</i> | 387 |

| | | |
|--------------|--|-----|
| Xuanshen | <i>Scrophularia ningpoensis</i> | 342 |
| Huoxiang | <i>Agastaches rugosa</i> | 302 |
| Banzhilian | <i>Lobelia chinesis</i> | 257 |
| Suanzhaoren | <i>Ziziphus jujuba</i> | 256 |
| Wugong | <i>Scolopendra subspinipes</i> | 248 |
| Jiangcan | <i>Bombyx batryticatus</i> | 227 |
| Maidong | <i>Ophiopogon japonicus</i> | 198 |
| Kushen | <i>Sophora flavescens</i> | 190 |
| Dansnen | <i>Salvia miltiorrhiza</i> | 187 |
| Qinjiu | <i>Gentiana macrophylla</i> | 180 |
| Huangqin | <i>Scutellaria amoena</i> | 178 |
| Jinqiancao | <i>Desmodium styracifolium</i> | 169 |
| Sanqi | <i>Panax notoginseng</i> | 169 |
| Yimucao | <i>Leonurus japonicus</i> | 169 |
| Juhua | <i>Dendranthema morifolium</i> | 160 |
| Zicao | <i>Arnebia euchroma</i> | 158 |
| Gegen | <i>Pueraria lobata</i> | 150 |
| Dazao | <i>Ziziphus jujuba</i> | 146 |
| Yejiateng | <i>Caulis polygonam multiflorum</i> | 143 |
| Shuanhua | <i>Lonicera japonica</i> | 140 |
| Erzhu | <i>Curcuma aeruginosa</i> | 120 |
| Gancao | <i>Glycyrrhiza uralensis</i> | 112 |
| Dilong | <i>Pheretima aspergillum</i> | 97 |
| Shengdi | <i>Rehmannia glutinosa</i> | 97 |
| Wuweizi | <i>Schisandra chinensis</i> | 86 |
| Qinghao | <i>Artemisia annua</i> | 84 |
| Banlangen | <i>Isatis indigotica</i> | 79 |
| Fangfeng | <i>Saposhnikovia divaricata</i> | 60 |
| Zhu Ye | <i>Herba lophatheri gracilis</i> | 55 |
| Shidagonglao | <i>Mahonia bealei</i> | 52 |
| Lianqiao | <i>Forsythia suspensa</i> | 45 |
| Huangjing | <i>Polygonatum sibiricum</i> | 45 |
| Damzjuye | <i>Lophartherum gracile</i> | 38 |
| Xiakucao | <i>Prunella vulgaris</i> | 34 |
| Baijing | <i>Herba patriniae scabiosaefoliae</i> | 32 |

| | | |
|--------------|-----------------------------|----|
| Duhuo | <i>Angelica biserrata</i> | 31 |
| Rouchongrong | <i>Cistanche desericola</i> | 28 |
| Chenpi | <i>Citrus reticulata</i> | 15 |
| Zhizi | <i>Galdenia jasminoides</i> | 12 |

Tab. 7 – *Principali erbe cinesi (64) contenenti melatonina in concentrazioni > 10 ng/g massa secca (Chen et al., 2003).*

| Nome comune | Nome scientifico | Melatonina ng/g |
|----------------------|-----------------------------|---------------------------|
| Erba di San Giovanni | <i>Hypericum perforatum</i> | 2,4 (fiori) |
| Erba di San Giovanni | <i>Hypericum perforatum</i> | 1,9 (foglie) |
| Millefoglio | <i>Achillea millefolium</i> | 45,4 (pianta giovane) |
| Altea | <i>Althaea officinalis</i> | 23,1 (pianta giovane) |
| Citronella | <i>Lippia citrodora</i> | 22,3 (pianta giovane) |
| Citronella | <i>Lippia citrodora</i> | 16,6 (foglie secche) |
| Melissa | <i>Melissa officinalis</i> | 15,6 (pianta giovane) |
| Tragoselino | <i>Pimpinella saxifraga</i> | 22,9 (radice secca) |
| Menta | <i>Menta piperita</i> | 19,3 (pianta giovane) |
| Menta | <i>Menta piperita</i> | 20 (foglie secche) |
| Salvia | <i>Salvia officinalis</i> | 32,8 (pianta giovane) |
| Timo | <i>Thymus vulgaris</i> | 30,4 (pianta giovane) |
| Timo | <i>Thymus vulgaris</i> | 26 (foglie e rami secchi) |

Tab. 8 – *Principali piante officinali alpine e del Mediterraneo contenenti melatonina in concentrazioni > 1 ng/g massa secca.*

Sono stati altresì condotti studi per valutare gli effetti della melatonina somministrata durante la gravidanza. Singh *et al.* (2012) hanno somministrato tramite bevanda 10 mg/kg/die in 9 ratte gravide, per tutta la durata della gravidanza fino al 31° giorno post-parto. Gli autori hanno riportato morte dei cuccioli (n= 81) alla 3 settimana nel 50% dei casi, e alla 6 settimana nel 95%. Non si è verificata morte materna, mentre i cuccioli sopravvissuti erano di dimensioni inferiori rispetto allo standard. Nessun effetto, invece, si è verificato a carico dei cuccioli nati da ratte non trattate con la melatonina. Probabilmente la somministrazione dell'ormone durante la gravidanza ha interferito con il normale sviluppo della ghiandola mammaria e conseguentemente con la produzione di latte spiegando le ridotte dimensioni dei cuccioli; mentre la morte prematura probabilmente potrebbe essere una conseguenza diretta di un qualche effetto teratogeno della melatonina durante la gravidanza, sebbene l'analisi auto biotica non abbia rivelato anomalie congenite. Similmente,

Singh *et al.* (2013) hanno somministrato 25-50 e 100 mg/kg/die di melatonina a ratte gravide (per aumento di peso delle ratte che hanno assunto l'ormone, i cui cuccioli però avevano una taglia inferiore rispetto ai controlli ($p < 0,05$). Nessuna ratta né alcun cucciolo è morto durante il periodo di studio, né si sono verificate anomalie congenite nei nuovi nati. Tali risultati supportano l'evidenza che la integrazione di melatonina con l'alimentazione è responsabile di lievi effetti collaterali.

8. Considerazioni conclusive

I risultati riportati in questa rassegna, derivati da una analisi della letteratura scientifica attualmente disponibile, supportano le proprietà antiossidanti della melatonina proveniente dal regno vegetale nel trattamento di diverse patologie sistemiche, specie per quanto riguarda la protezione dallo stress ossidativo dei raggi ultravioletti e da effetti fotodinamici, noxa primaria per il regno vegetale. Denominatori comuni di tali condizioni sono la presenza di un elevato tasso di stress ossidativo e di radicali liberi responsabili dei fenomeni degenerativi.

La indicazione all'uso preferenziale della fitomelatonina pura piuttosto che della melatonina sintetica, non ha trovato fino ad ora in letteratura adeguato riscontro, in virtù della ipotesi secondo cui la singola somministrazione dell'ormone purificato dalla sua pianta di origine piuttosto che l'estratto complesso della specie vegetale permette di quantificare accuratamente il dosaggio di tale molecola nel trattamento terapeutico, con un più accurato rapporto dose/effetto; per quanto ci riguarda, riteniamo che la somministrazione del fitocomplesso sia in grado di apportare sostanziali benefici supplementari, come dimostrato da Reiter *et al.* (2013), nel cui studio si assiste ad un significativo aumento della componente antiossidante plasmatica (TEAC e FRAP) dopo somministrazione di 3,0-3,5 g/die di noci (contenuto melatoninico medio di $3,5 \pm 1,0$ ng/g). Inoltre appare degno di nota il fatto che il fitocomplesso assunto nel tratto digestivo dal paziente, promuove una cascata di eventi secretivi più complessi, in grado di utilizzare selettivamente ma più integralmente tutti i principi attivi presenti: si torna così a valorizzare il consumo di estratti vegetali non raffinati a mo' di cibi, piuttosto che di farmaci, in modo da modificare il substrato patologico dell'organismo con una attiva interazione tra il prodotto nutraceutico complesso e tutto l'assetto entero-ormonale, cellulare immuno-competente, enzimatico, neurochimico e citochimico che partecipa all'utilizzo dell'alimento e ne rende biodisponibili le quote farmacologicamente attive di tutte le componenti.

Tale concetto, altamente fisiologico, che pone l'apparato digestivo nel suo insieme alla base del meccanismo curativo, viene sempre meglio recepito dagli esperti di nutrizione e consente, nel caso della fitomelatonina, di essere assunta attraverso una pluralità di piante medicinali e da frutta o di verdure esaltando

di ognuna qualità peculiari, che al momento sono oggetto di *screening* e di identificazione, per meglio essere indirizzate all'uso clinico.

Bibliografia

- ABE M., REITER R.J., ORHII P.B., HARA M., POEGGELER B., 1994 – *Inhibitory effect of melatonin on cataract formation in new-born rats: evidence for an antioxidative role for melatonin*. Journal of Pineal Research, **17**, pp. 94-100.
- ADDONISIO T., CANITANO N., 2006 – *Diatermia capacitiva in sinergia con fitomelatonina nell'invecchiamento cutaneo*. 9° Congresso Internazionale "Novità e aggiornamenti in tema di Medicina e Chirurgia Estetica", 24-26 febbraio 2006, Bologna.
- AFREEN F., ZOBAYED S.M., KOZAI T., 2006 – *Melatonin in Glycyrrhiza uralensis: response of plant roots to spectral quality of light and UV-B radiation*. Journal of Pineal Research, **41**, pp. 108-115.
- AKMALI M., AHMADI R., VESSAL M., 2010 – *Pre- and post-treatment of streptozotocin administered rats with melatonin: effects on some hepatic enzymes of carbohydrate metabolism*. Archives of Iranian Medicine, **13**, pp. 105-110.
- ANTON S.D., HEEKIN K., SIMKINS C., COSTA A., 2013 – *Differential effects of adulterated versus unadulterated forms of linoleic acid on cardiovascular health*. Journal of Integrative Medicine, **11**, pp. 2-10.
- ANWAR M.M., MEKI A.R., 2003 – *Oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats: effects of garlic oil and melatonin*. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A, Molecular & Integrative Physiology, **135**, pp. 539-547.
- BERK L., BERKEY B., RICH T., HRUSHESKY W., BLASK D., GALLAGHER M., 2007 – *Randomized phase II trial of high-dose melatonin and radiation therapy for RPA class 2 patients with brain metastases (RTOG 0119)*. International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics, **68**, pp. 852-857.
- BLASK D.E., DAUCHY R.T., SAUER L.A., KRAUSE J.A., 2004 – *Melatonin uptake and growth prevention in rat hepatoma 7288CTC in response to dietary melatonin: melatonin receptor-mediated inhibition of tumor linoleic acid metabolism to the growth signaling molecule 13-hydroxyoctadecadienoic acid and the potential role of phytomelatonin*. Carcinogenesis, **25**, pp. 951-960.
- BLASK D.E., SAUER L.A., DAUCHY R.T., HOLOWACHUK E.W., RUHOFF M.S., KOPFF H.S., 1999 – *Melatonin inhibition of cancer growth in vivo involves suppression of tumor fatty acid metabolism via melatonin receptor-mediated signal transduction events*. Cancer Research, **59**, pp. 4693-46701.
- BLICKENSTAFF R.T., BRANDSTADTER S.M., REDDY S., WITT R., 1994 – *Potential radioprotective agents. 1. Homologs of melatonin*. Journal of Pharmaceutical Sciences, **83**, pp. 216-218.
- BLIWISE D.L., ANSARI F.P., 2007 – *Insomnia associated with valerian and melatonin usage in the 2002 National Health Interview Survey*. Sleep, **30**, pp. 881-884.
- BREZINOVA B., OSWALD I., 1972 – *Sleep after a bedtime beverage*. British Medical Journal, **2**, pp. 431-433.
- BRUSCO L.I., MARQUEZ M., CARDINALI D.P., 1998 – *Monozygotic twins with Alzheimer's disease treated with melatonin: Case report*. Journal of Pineal Research, **25**, pp. 260-263.
- BRUSCO L.I., MARQUEZ M., CARDINALI D.P., 2000 – *Melatonin treatment stabilizes chronobiologic and cognitive symptoms in Alzheimer's disease*. Neuro Endocrinology Letters, **21**, pp. 39-42.
- CAGNACCI A., CANNOLETTA M., RENZI A., BALDASSARRI F., ARANGINO S., VOLPE A., 2005 – *Prolonged melatonin administration decreases nocturnal blood pressure in women*. American Journal of Hypertension, **18**, pp. 1614-1618.
- CHEN G., HUO Y., TAN D.X., LIANG Z., ZHANG W., ZHANG Y., 2003 – *Melatonin in Chinese medicinal herbs*. Life Sciences, **73**, pp. 19-26.
- CHUNG K.F., LEE C.K., 2002 – *Over-the-counter sleeping pills: a survey of use in Hong Kong and a review of their constituents*. General Hospital Psychiatry, **24**, pp. 430-435.
- CORNU C., REMONTER L., NOEL-BARON F., NICOLAS A., FEUGIER-FAVIER N., ROY P., 2010 – *A dietary supplement to improve the quality of sleep: a randomized placebo controlled trial*. BMC Complementary and Alternative Medicine, **10**, pp. 29-35.
- DAUMERIE C.M., WOOLLETT L.A., DIETSCHY J.M., 1992 – *Fatty acids regulate hepatic low-density lipoprotein receptor activity through redistribution of intracellular cholesterol pools*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, **89**, pp. 10797-10801.
- DOWLING G.A., MASTICK J., COLLING E., CARTER J.H., SINGER C.M., AMINOFF M.J., 2005 – *Melatonin for sleep disturbances in Parkinson's disease*. Sleep Medicine, **6**, pp. 459-466.

- FELDMAN E.B., RUSSEL B.S., SCHNARE F.H., MORETTI-ROJAS I., MILES B.C., DOYLE E.A., 1979 – *Effects of diets of homogeneous saturated triglycerides on cholesterol balance in rats*. The Journal of Nutrition, **109**, pp. 2237-2346.
- FERRAMOSCA A., ZARA V., 2014 – *Modulation of hepatic steatosis by dietary fatty acids*. World Journal of Gastroenterology, WJG, **20**, pp. 1746-1755.
- GARRIDO M., PAREDES S.D., CUBERO J., LOZANO M., TORIBIO-DELGADO A.F., MUÑOZ J.L., 2010 – *Jerte Valley cherry-enriched diets improve nocturnal rest and increase 6-sulfatoxymelatonin and total antioxidant capacity in the urine of middle-aged and elderly humans*. The Journals of Gerontology, Series A, Biological Sciences and Medical Sciences, **65**, pp. 909-914.
- GHIELMINI M., PAGANI O., DE JONG J., PAMPALLONA S., CONTI A., MAESTRONI G., 1999 – *Double-blind randomized study on the myeloprotective effect of melatonin in combination with carboplatin and etoposide in advanced lung cancer*. British Journal of Cancer, **80**, pp. 1058-1061.
- GOONERATNE N.S., 2008 – *Complementary and alternative medicine for sleep disturbances in older adults*. Clinics in Geriatric Medicine, **24**, pp. 121-138.
- GYLING H., HALLIKAINEN M., NISSINEN M.J., SIMONEN P., MIETTINEN T.A., 2010 – *Very high plant stanol intake and serum plant stanols and non-cholesterol-sterols*. European Journal of Nutrition, **49**, pp. 111-117.
- HATTORI A., MIGHTAKA H., IGO M., ITOH M., YAMAMOTO K., OHTANI-KANEKO R., 1995 – *Identification of melatonin in plants and its effects on plasma melatonin levels and binding to melatonin receptors in vertebrates*. Biochemistry and Molecular Biology International, **35**, pp. 627-634.
- HAUG A., HOSTMARK A.T., HARSTAD O.M., 2007 – *Bovine milk in human nutrition: a review*. Lipids in Health and Disease, **6**, pp. 25-31.
- ITALIAN STUDY GROUP FOR THE DI BELLA MULTI-THERAPY TRAILS, 1999 – *Evaluation of an unconventional cancer treatment (the Di Bella multi-therapy): results of phase II trials in Italy*. BMJ Clinical Research (ed.), **318**, pp. 224-228.
- JAMA - The Journal of the American Medical Association, 2001 – *Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol*. In: "Adults" (Adult Treatment Panel III), **285**, pp. 2486-2497.
- JEAN-LOUIS G., VON GIZYCKI H., ZIZI F., 1998 – *Melatonin effects on sleep, mood, and cognition in elderly with mild cognitive impairment*. Journal of Pineal Research, **25**, pp. 177-183.
- KARASEK M., WINCZYK K., 2006 – *Melatonin in humans*. Journal of Physiology and Pharmacology: an official journal of the Polish Physiological Society, **5**, pp. 19-39.
- KATOH M., KATOH M., 2003 – *Identification and characterization of human TIPARP gene within the CCNL amplicon at human chromosome 3q25.31*. International Journal of Oncology, **23**, pp. 541-547.
- KAYA H., DELIBAS N., SERTSER M., ULUKAYA E., OZKAYA O., 1999 – *The effect of melatonin on lipid peroxidation during radiotherapy in female rats*. Strahlentherapie und Onkologie: Organ der Deutschen Röntgenesellschaft, **175**, pp. 285-288.
- KILIC E., KILIC U., BACIGALUPPI M., GUO Z., ABDALLAH N.B., WOLFER D.P., 2008 – *Delayed melatonin administration promotes neuronal survival, neurogenesis and motor recovery, and attenuates hyperactivity and anxiety after mild focal cerebral ischemia in mice*. Journal of Pineal Research, **45**, pp. 142-148.
- KIM B.C., SHON B.S., RYOO Y.W., KIM S.P., LEE K.S., 2001 – *Melatonin reduces X-ray irradiation-induced oxidative damages in cultured human skin fibroblasts*. Journal of Dermatological Science, **26**, pp. 194-200.
- KIM M.J., KIM H.K., KIM B.S., YIM S.V., 2004 – *Melatonin increases cell proliferation in the dentate gyrus of maternally separated rats*. Journal of Pineal Research, **37**, pp. 193-197.
- KLESZCZYNSKI K., FISCHER T.W., 2012 – *Melatonin and human skin aging*. Dermato-endocrinology, **4**, pp. 245-252.
- KOHNO Y., EGAWA Y., ITOH S., NAGAOKA S., TAKAHASHI M., MUKAI I., 1995 – *Kinetic study of quenching reaction of singlet oxygen and scavenging reaction of free radical by squalene in n-butanol*. Biochimica et Biophysica Acta, **1256**, pp. 52-56.
- KONTUREK S.J., KONTUREK P.C., BRZOZOWSKA I., PAWLIK M., SLIWOWSKI Z., CZESNIKIEWICZ-GUZIK M., 2007 – *Localization and biological activities of melatonin in intact and diseased gastrointestinal tract (GIT)*. Journal of Physiology and Pharmacology: an official journal of the Polish Physiological Society, **58**, pp. 381-405.
- KRITCHEVSKY D., 1994 – *Stearic acid metabolism and atherogenesis: history*. The American Journal of Clinical Nutrition, **60**, pp. 997s-1001s.

- KRITCHEVSKY D., TEPPER S.A., 1965 – *Cholesterol vehicle in experimental atherosclerosis. Influence of naturally occurring saturated fats*. *Medicina et Pharmacologia Experimentalis, International Journal of Experimental Medicine*, **12**, pp. 315-320.
- KUMAR S., BANSAL A., CHABRABARTI A., SINGHI S., 2013 – *Evaluation of efficacy of probiotics in prevention of candida colonization in a PICU-a randomized controlled trial*. *Critical Care Medicine [Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]*, **41**, pp. 565-572.
- LAAKSONEN D.E., NYSSONEN K., NISKANEN L., RISSANEN T.H., SALONEN J.T., 2005 – *Prediction of cardiovascular mortality in middle-aged men by dietary and serum linoleic and polyunsaturated fatty acids*. *Archives of Internal Medicine*, **165**, pp. 193-199.
- LAIRD D.A., DREXEL H., 1934 – *Experimenting with food and sleep. I. Effects of varying types of foods in offsetting sleep disturbances caused by hunger pangs and gastric distress in children and adults*. *Journal of the American Dietetic Association*, **10**, pp. 89-94.
- LENZ S.P., IZUI S., BENEDIKTSSON H., HART D.A., 1995 – *Lithium chloride enhances survival of NZB/W lupus mice: influence of melatonin and timing of treatment*. *International Journal of Immunopharmacology*, **17**, pp. 581-592.
- LI Z.R., REITER R.J., FUJIMORI O., OH C.S., DUAN Y.P., 1997 – *Cataractogenesis and lipid peroxidation in newborn rats treated with buthionine sulfoximine: preventive actions of melatonin*. *Journal of Pineal Research*, **22**, pp. 117-123.
- LISSONI P., BARNI S., TANCINI G., ARDIZZOIA A., RICCI G., ALDEGHI R., 1994 – *A randomised study with subcutaneous low-dose interleukin 2 alone vs interleukin 2 plus the pineal neurohormone melatonin in advanced solid neoplasms other than renal cancer and melanoma*. *British Journal of Cancer*, **69**, pp. 196-199.
- LISSONI P., CHILELLI M., VILLA S., CERIZZA L., TANCINI G., 2003 – *Five years survival in metastatic non-small cell lung cancer patients treated with chemotherapy alone or chemotherapy and melatonin: a randomized trial*. *Journal of Pineal Research*, **35**, pp. 12-15.
- LISSONI P., PAOLOROSSO F., TANCINI G., ARDIZZOIA A., BARNI S., BRIVIO F., 1996 – *A phase II study of tamoxifen plus melatonin in metastatic solid tumour patients*. *British Journal of Cancer*, **74**, pp. 1466-1468.
- LLOR X., PONS E., ROCA A., ALVAREZ M., MANE J., FERNANDEZ-BANARES F., 2003 – *The effects of fish oil, olive oil, oleic acid and linoleic acid on colorectal neoplastic processes*. *Clinical Nutrition, Edinburgh, Scotland*, **22**, pp. 71-79.
- LUBOSHITZKY R., WAGNER O., LAVI S., HERER P., LAVIE P., 1997 – *Abnormal melatonin secretion in hypogonadal men: the effect of testosterone treatment*. *Clinical Endocrinology*, **47**, pp. 463-469.
- MANENDEZ J.A., VELLON L., COLOMER R., LUPU R., 2005 – *Oleic acid, the main monounsaturated fatty acid of olive oil, suppresses Her-2/neu (erbB-2) expression and synergistically enhances the growth inhibitory effects of trastuzumab (Herceptin) in breast cancer cells with Her-2/neu oncogene amplification*. *Annals of Oncology, Official Journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*, **16**, pp. 359-371.
- MILLER J.W., SELHUB J., JOSEPH J.A., 1996 – *Oxidative damage caused by free radicals produced during catecholamine autoxidation: protective effects of O-methylation and melatonin*. *Free Radical Biology & Medicine*, **21**, pp. 241-249.
- MONTILLA P.L., VARGAS J.F., TUNEZ I.F., MUNOZ DE AGUEDA M.C., VALDEVIRA M.E., CABRERA E.S., 1998 – *Oxidative stress in diabetic rats induced by streptozotocin: protective effects of melatonin*. *Journal of Pineal Research*, **25**, pp. 94-100.
- NAGATA C., NAGAO Y., SHIBUYA C., KASHIKI Y., SHIMIZU H., 2005 – *Association of vegetable intake with urinary 6-sulfatoxymelatonin level*. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, co-sponsored by the American Society of Preventive Oncology*, **14**, pp. 1333-1335.
- NAHAS R., 2008 – *Complementary and alternative medicine approaches to blood pressure reduction: An evidence-based review*. *Canadian Family Physician / Médecin de Famille Canadien*, **54**, pp. 1529-1533.
- NEWMARK H.L., 1999 – *Squalene, olive oil, and cancer risk. Review and hypothesis*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **889**, pp. 193-203.
- OHLSSON L., 2010 - *Dairy products and plasma cholesterol levels*. *Food & Nutrition Research*, **54**.
- PANDHY B.M., KUMAR V.L., 2005 – *Inhibition of Calotropis procera latex-induced inflammatory hyperalgesia by oxytocin and melatonin*. *Mediators of Inflammation*, **14**, pp. 360-365.
- PARADES S.D., KORMAZ A., MANCHESTER L.C., TAN D.X., RETITTER R.J., 2009 – *Phytomelatonin: a review*. *Journal of Experimental Botany*, **60**, pp. 57-69.
- PEARL P.L., DRILLINGS I.M., CONRY J.A., 2011 – *Herbs in epilepsy: evidence for efficacy, toxicity, and interactions*. *Seminars in Paediatric Neurology*, **18**, pp. 203-208.

- PEREIRA S., 2006 – *Regression of gastroesophageal reflux disease symptoms using dietary supplementation with melatonin, vitamins and aminoacids: comparison with omeprazole*. Journal of Pineal Research, **41**, pp. 195-200.
- PERREAU V.M., BONDY S.C., COTMAN C.W., SHARMAN K.G., SHARMAN E.H., 2007 – *Melatonin treatment in old mice enables a more youthful response to LPS in the brain*. Journal of Neuroimmunology, **182**, pp. 22-31.
- PIERPAOLI W., MAESTRONI G.J., 1987 – *Melatonin: a principal neuroimmunoregulatory and anti-stress hormone: its anti-aging effects*. Immunology Letters, **16**, pp. 355-361.
- PIERPAOLI W., DALL'ARA A., PEDRINIS E., REGELSON W., 1991 – *The pineal control of aging. The effects of melatonin and pineal grafting on the survival of older mice*. Annals of the New York Academy of Sciences, **621**, pp. 291-313.
- PRUIG-DOMINGO M., WEBB S.M., SERRANO J., PEINADO M.A., CORCOY R., RUSCELLADA J., 1992 – *Brief report: melatonin-related hypogonadotropic hypogonadism*. The New England Journal of Medicine, **27**, pp. 1356-1359.
- REITER R.J., MANCHESTER L.C., TAN D.X., 2005 – *Melatonin in walnuts: influence on levels of melatonin and total antioxidant capacity of blood*. Nutrition, **21**, pp. 920-924.
- REITER R.J., TAN D.X., MANCHESTER L.C., SIMPOULOS A.P., MALDONADO M.D., FLORES L.J., 2007 – *Melatonin in edible plants (phytomelatonin): Identification, concentrations, bioavailability and proposed functions*. World Review of Nutrition and Dietetics, **97**, pp. 211-230.
- REITER R.J., TAN D.X., MANCHESTER L.C., KORKMAZ A., FUENTES-BROTO L., HARDMAN W.E., 2013 – *A walnut-enriched diet reduces the growth of LNCaP human prostate cancer xenografts in nude mice*. Cancer Investigation, **31**, pp. 365-373.
- ROMANENKO V.I., 1983 – *Melatonin as a possible endogenous leukemogenic (blastomogenic) agent*. Hematologii i Transfuziologii, **28**, pp. 47-50.
- SAE-TEAW M., JOHNS J., JOHNS N.P., SUBONGKOT S., 2013 – *Serum melatonin levels and antioxidant capacities after consumption of pineapple, orange, or banana by healthy male volunteers*. Journal of Pineal Research, **55**, pp. 58-64.
- SANDERS D.C., CHATURVEDI A.K., HORDINSKY J.R., 1999 – *Melatonin: aeromedical, toxicopharmacological, and analytical aspects*. Journal of Analytical Toxicology, **23**, pp. 159-167.
- SARLAK G., JENWITHEESUK A., CHETSAWANG B., GOVITRAPONG P., 2013 – *Effects of melatonin on nervous system aging: neurogenesis and neurodegeneration*. Journal of Pharmacological Sciences, **123**, pp. 9-24.
- SARMENTO R.A., SILVA F.M., SBRUZZI G., SCHAN B.D., ALMEIDA J.C., 2013 – *Antioxidant micronutrients and cardiovascular risk in patients with diabetes: a systematic review*. Arquivos Brasileiros de Cardiologia, **101**, pp. 240-248.
- SCHEER F.A., VAN MONTFRANS G.A., VAN SOMEREN E.J., MAIRUHU G., BULIS R.M., 2004 – *Daily night-time melatonin reduces blood pressure in male patients with essential hypertension*. Hypertension, **43**, pp. 192-197.
- SHARMAN E.H., SHARMAN K.G., BONDY S.C., 2011 – *Exposure to dietary melatonin reduces tumor number and size in aged male mice*. Experimental Gerontology, **46**, pp. 18-22.
- SHIMAZAKI M., MARTIN J.L., 2007 – *Do herbal agents have a place in the treatment of sleep problems in long-term care?* Journal of the American Medical Directors Association, **8**, pp. 248-252.
- SINGH A., NAIDU P.S., GUPTA S., KULKARNI S.K., 2002 – *Effect of natural and synthetic antioxidants in a mouse model of chronic fatigue syndrome*. Journal of Medicinal Food, **5**, pp. 211-220.
- SINGH H.J., KEAH L.S., KUMAR A., SIRAJUDEEN K.N., 2012 – *Adverse effects of melatonin on rat pups of Wistar-Kyoto dams receiving melatonin supplementation during pregnancy*. Experimental and Toxicologic Pathology, official journal of the Gesellschaft für Toxikologische Pathologie, **64**, pp. 751-752.
- SINGH H.J., SALEH H.I., GUPALO S., OMAR E., 2013 – *Effect of melatonin supplementation on pregnancy outcome in Wistar-Kyoto and Sprague-Dawley rats*. In: Sheng Li & Xue Bao (eds.), Acta Physiologica Sinica, **65**, pp. 149-157.
- SUBRAMANIAN P., MIRUNALINI S., DAKSHAYANI K.B., PANDI-PERUMAL S.R., TRAKHT I., CARDINALI D.P., 2007 – *Prevention by melatonin of hepatocarcinogenesis in rats injected with N-nitrosodiethylamine*. Journal of Pineal Research, **43**, pp. 305-312.
- TAN D.X., MANCHESTER L.C., DI MASCIO P., MARTINEZ G.R., PRADO F.M., REITER R.J., 2007 – *Novel rhythms of N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine and its precursor melatonin in water hyacinth: importance for phytoremediation*. FASEB Journal, official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology, **21**, pp. 1724-1729.

- TAN D.X., MANCHESTER L.C., HELTON P., REITER R.J., 2007 – *Phytoremediative capacity of plants enriched with melatonin*. *Plant signalling & behaviour*, **2**, pp. 514-516.
- TAN D.X., MANCHESTER L.C., LIU X., ROSALES-CORRAL S.A., ACUNA-CASTROVEJO D., REITER R.J., 2013 – *Mitochondria and chloroplasts as the original sites of melatonin synthesis: a hypothesis related to melatonin's primary function and evolution in eukaryotes*. *Journal of Pineal Research*, **54**, pp. 127-138.
- VIJAYALAXMI, REITER R.J., MELTZ M.L., 1995 – *Melatonin protects human blood lymphocytes from radiation-induced chromosome damage*. *Mutation Research*, **346**, pp. 23-31.
- VIJAYALAXMI, REITER R.J., MELTZ M.L., HERMAN T.S., 1998 – *Melatonin: possible mechanisms involved in its 'radioprotective' effect*. *Mutation Research*, **404**, pp. 187-189.
- YANG J., MOSES M.A., 2009 – *Lipocalin 2: a multifaceted modulator of human cancer*. *Cell Cycle (Georgetown, Tx)*, **8**, pp. 2347-2352.
- WATERMAN E., LOCKWOOD B., 2007 – *Active components and clinical applications of olive oil*. *Alternative Medicine Review: a journal of clinical therapeutics*, **12**, pp. 331-342.
- WILSON R.F., 2012 – *The role of genomics and biotechnology in achieving global food security for high-oleic vegetable oil*. *Journal of Oleo Science*, **61**, pp. 357-367.