

Funcionalismo pineal (tasas de melatonina) en niños sanos de diferentes edades. Actualidad e interés del estudio de la glándula pineal en Pediatría

A. Molina Carballo, A. Muñoz Hoyos, J. Uberos Fernández, D. Acuña Castroviejo¹, J.A. Molina Font

Resumen. Fundamentos. Clásicamente, la función de la glándula pineal implicaba la regulación de diversas funciones endocrinas y no endocrinas, tales como la reproducción estacional, la sincronización de ritmos biológicos y el ciclo sueño/vigilia. El estudio de la glándula pineal ha adquirido de nuevo una gran relevancia por la reciente constatación de que la melatonina (aMT) es el más potente de los antioxidantes conocidos.

Material y métodos. Se aportan nuestros valores de aMT ($X \pm DS$, pg/ml), mediante técnica de RIA, en niños sanos, agrupados según edad y momento de extracción de la muestra. Las diferencias entre grupos se valoran mediante un test de comparación de medias.

Resultados. La tasa plasmática de aMT en sangre de cordón es en buena medida reflejo de la materna, así como su ritmo de secreción, sin diferencias entre arteria y vena umbilical. Observamos un significativo incremento de su concentración en el período neonatal precoz. En edades posteriores y en determinaciones a las 09.00 horas observamos un valor máximo de $60,8 \pm 100,58$ en el grupo con edades comprendidas entre 18 meses y 6 años, que pasa a ser de $35,54 \pm 9,17$ entre los 6-8 años (ambos inclusive) con diferencias significativas ($p < 0,001$), con un descenso añadido entre los de 8 y 13 años ($25,28 \pm 7,16$, $p < 0,01$). En cambio, se observa un incremento de la melatonina plasmática en el grupo de 13-15 años (ambos inclusive): $31,14 \pm 8,29$ pg/ml, $p < 0,01$.

Conclusiones. Nuestros datos señalan la presencia de una pineal funcionante en el período neonatal aunque no imprima a su secreción de aMT una variación circadiana. A partir de la etapa preescolar se evidencia un descenso de la secreción pineal de aMT conforme avanza la edad del niño, excepto durante el período puberal en el que ocurre un ligero incremento.

Finalmente, en la presente aportación revisamos los conocimientos existentes acerca del funcionalismo pineal, comentando aquellos aspectos que entendemos pueden ser de interés para un mejor conocimiento del niño, en el contexto de la pediatría actual, capaz de nutrirse de las descripciones básicas para entender mejor la fisiología y fisiopatología infantil.

An Esp Pediatr 1996;45:33-44.

Palabras clave: Glándula pineal; Melatonina; Niños; Pubertad; Crecimiento; Antioxidantes.

PINEAL FUNCTION (LEVELS OF MELATONIN) IN HEALTHY CHILDREN OF DIFFERENT AGES. AN UPDATE AND THE IMPORTANCE OF STUDYING THE PINEAL GLAND DURING THE PEDIATRIC PERIOD

Abstract. Background: Classically, the function of the pineal gland involved the regulation of several endocrine and non-endocrine functions, such as seasonal breeding, biological rhythm synchronization and the sleep/wake cycle. The study of the pineal gland has not a new

increasing interest due to the recent discovery that melatonin is the most potent antioxidant compound known to date.

Material and Methods: We present here the data of aMT levels (mean \pm SD, pg/ml) measured by RIA in healthy children grouped by age and time of sample extraction. The group differences are evaluated by a mean comparison test.

Results: The results showed that plasma levels of aMT in cord blood reflect both the aMT levels and their circadian rhythm seen in the mother, without significant differences between umbilical artery and vein. In children between 18 months and 6 years of age, aMT concentrations at 09.00 reaches a maximum of $60,8 \pm 100,58$. This value significantly decreased in children between 6-8 years old ($35,54 \pm 9,17$, $p < 0,001$), with a more significant decrease in children 8-13 years old ($25,28 \pm 7,16$, $p < 0,01$). However, in children 13-15 years of age, aMT concentrations increased to $31,14 \pm 8,29$ pg/ml ($p < 0,01$).

Conclusion: Our data support the existence of a functional pineal gland during the neonatal period, although it lacks the rhythmic secretion of aMT. From the preschool stage, children show a significant decrease in aMT concentration, except during the pubertal period when there is a small increase in aMT levels. In this paper we also review the available information about pineal function, specifically in regards to the relationship between pineal-melatonin and CURRENT PEDIATRICS in order to better understand the infant physiology and physiopathology related to this area.

Key words: Pineal gland. Melatonin. Children. Puberty. Growth. Antioxidant.

Introducción

La N-acetil-5-metoxi-triptamina, melatonina (aMT), fue aislada y caracterizada por Lerner en 1958⁽¹⁾. Casi la totalidad de su presencia en el plasma tiene su origen en la glándula pineal⁽²⁾. Los pinealocitos, al igual que otras células, convierten el triptófano en serotonina, y a diferencia de otras células, convierten ésta en N-acetil-serotonina y finalmente en melatonina (Fig. 1). La glándula pineal es parte de una vía fotoneuroendocrina que iniciada en la retina transforma la tasa de luminosidad ambiente en una secreción endocrina clásica que afecta a la gran mayoría de los órganos y sistemas. La luz, a través de una vía nerviosa que tiene como estaciones fundamentales la retina, el núcleo supraquiasmático y el ganglio cervical superior (Fig. 2) (tomada de Reiter RJ⁽³⁾), imprime a la secreción pineal un acusado ritmo circadiano de secreción, con elevados niveles nocturnos y mínimos durante las horas de luz⁽⁴⁾. En personas ciegas⁽⁵⁾ y en trabajadores nocturnos se altera su ritmo de secreción⁽⁶⁾ y, además, en los invidentes el ritmo de secreción de aMT no se sincroniza con los períodos de luz/oscuridad y aunque persiste una variación diaria la acrofase se va desplazando a lo largo de las 24 horas⁽⁵⁾. El pico de máxima secreción (acrofase) en humanos y en todos los mamíferos (independientemente de si su período

Departamentos de Pediatría y Fisiología¹. Hospital Universitario. Universidad de Granada. Granada.

Correspondencia: Antonio Molina Carballo

Dpto. de Pediatría. Facultad de Medicina. Avda. de Madrid, 11. 18971 Granada.

Recibido: Abril 1995

Aceptado: Septiembre 1995

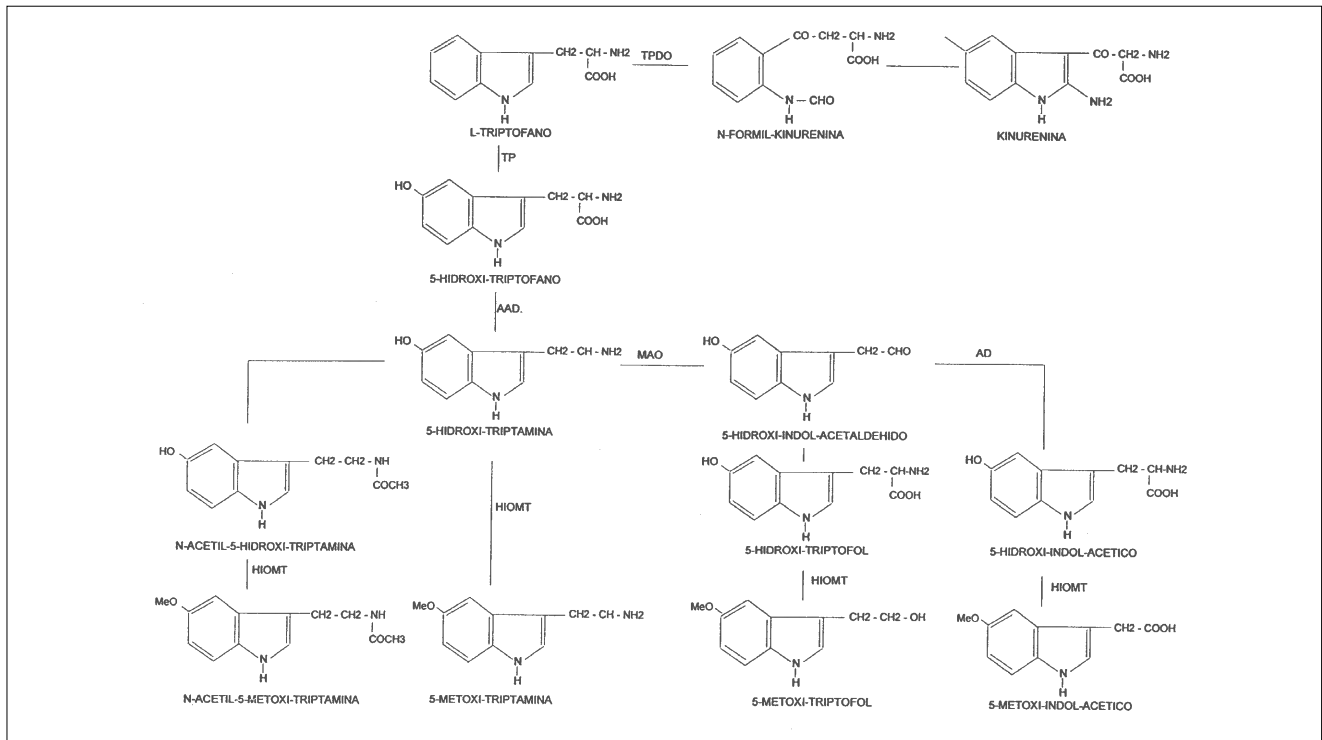


Figura 1. Vía de degradación del triptófano hacia serotonina y melatonina.

do de actividad es diurno o nocturno) se sitúa sobre las 2 de la madrugada y el valor mínimo (nadir) sobre las dos de la tarde⁽⁷⁾.

El estudio de la función específica de la glándula pineal y de su hormona melatonina en la especie humana es motivo durante los últimos años de una intensa actividad investigadora. En los animales de reproducción estacional ejerce un claro papel antigonal^(8,9). La administración aMT en humanos tiene un efecto sedante, inductor del sueño y sincronizador de ritmos biológicos^(2,10). Muy recientemente, se está prestando gran atención a su marcada potencia como antioxidante⁽¹¹⁾ y hormona anti-envejecimiento⁽¹²⁾, eliminando radicales libres y por tanto ejerciendo un papel fundamental como «lubricante» de todas las funciones celulares, como ya anticipara Romijn en 1978⁽¹³⁾. Este papel como protector celular sería muy primitivo filogenéticamente⁽¹⁴⁾, como ha comprobado entre nosotros Acuña (datos no publicados) al detectar su presencia en dinoflagelados de la era primaria; y no estaría ligado a receptor alguno, teniendo lugar a nivel intracitoplasmático e intranuclear.

Justificación y objetivos

Puesto que, según se recoge en la literatura, la secreción de melatonina es máxima en los primeros años de la vida⁽¹⁵⁾ y desciende progresivamente desde la etapa puberal hasta la edad adulta y la senectud⁽¹⁶⁾, algunos autores mantienen que es en la edad pediátrica cuando la glándula pineal y la melatonina jugarían su papel primordial. Este planteamiento nos impulsó a analizar las concentraciones plasmáticas de aMT en niños normales de nues-

tro medio, agrupados según distintas edades pediátricas, y simultáneamente hacer una breve reseña de las aportaciones y conocimientos más recientes referidos por la literatura, con la finalidad de conectar la inquietud y necesidad de tener un mejor conocimiento del niño, con las apasionantes novedades que las disciplinas básicas (Fisiología, Bioquímica, etc.) vienen ofreciendo en estos últimos años.

Material y métodos

Se estudian 517 niños con edades comprendidas entre 1 día y 15 años, atendidos en el Hospital Universitario de Granada y en centros de Atención Primaria de las provincias de Granada y Jaén, con la característica común de tratarse de niños normales a los que se les extrajo una muestra de sangre por alguna de las siguientes circunstancias: a) examen de salud; b) control analítico de enfermedad leve; c) despistaje de algún proceso patológico. En todos los casos el diagnóstico final fue de normalidad, o bien la presencia de un proceso agudo banal y sin repercusión sobre la función neuroendocrina pineal. El estudio se inició en 1987 y concluyó con la obtención de las últimas muestras a finales de 1994. En cumplimiento de los *Acuerdos de Helsinki*, antes de seleccionar a un paciente se procedió a informar a los padres o tutores de la finalidad del estudio y de los procedimientos a realizar sobre el niño, con el fin de obtener la pertinente autorización.

Todos los niños seleccionados cumplían las siguientes condiciones: 1) Ausencia entre los antecedentes familiares de en-

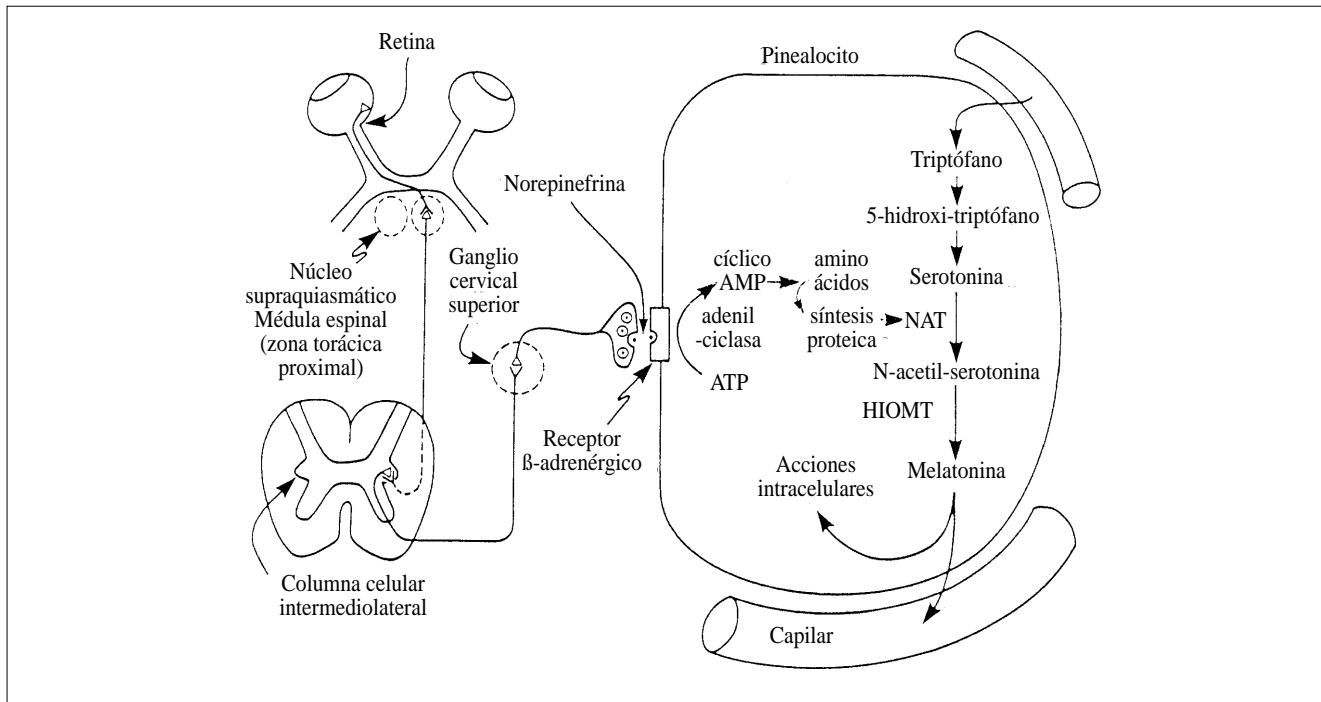


Figura 2. Diagrama representativo de las conexiones neurales entre los ojos y la glándula pineal. El neurotransmisor liberado por las terminaciones postgangliónicas en la glándula pineal es la norepinefrina (NE) que actúa sobre los β y a veces sobre los α -receptores (o ambos) estimulando la producción de melatonina por intermedio del AMPc como segundo mensajero. La melatonina formada pasa rápidamente a la circulación sistémica. *Modificada de Reiter RJ⁽³⁾.*

fermedades hereditarias. 2) Ausencia en la historia personal de enfermedades orgánicas conocidas, a excepción de las propias de la infancia de curso favorable. 3) La mayoría de los casos estuvieron ingresados en nuestro hospital por patología de carácter leve (gastroenteritis agudas, procesos respiratorios de vías altas con mala tolerancia oral o intervenciones quirúrgicas menores), que evolucionaron favorablemente. Se procedió a realizar las determinaciones justo antes de dar el alta hospitalaria al paciente. 4) Estancia hospitalaria corta, con una media de 2-3 días. 5) Desarrollo pondoestatural y psicomotor normal. 6) Análítica general normal. 7) Normalidad clínica completa en el momento de la extracción de la muestra. 8) Ausencia de medicación.

En los pacientes ingresados, las muestras sanguíneas fueron obtenidas en el momento de la retirada de la vía endovenosa con la doble finalidad de asegurarnos la normalidad clínica y analítica y evitar punciones venosas innecesarias. En el resto de niños, por venopunción en el marco del Programa de Salud Escolar (ampliado) de la Junta de Andalucía.

Las características del ritmo de producción de melatonina (con máxima producción nocturna) dificulta de forma importante los estudios realizados en poblaciones normales, condicionando en gran medida no sólo el número de tomas a realizar, sino el momento en el que han de obtenerse. Por ello, vamos a considerar como aspecto fundamental de esta aportación el momento del día en el que se realiza la extracción para la determinación de aMT.

El material objeto de nuestro estudio, una vez seleccionado, se dividió en función de las distintas edades pediátricas en seis grupos (recién nacidos, lactantes, preescolares, escolares, púberes, adolescentes) que quedaron definidos de la siguiente manera:

Grupo A. Formado por 140 recién nacidos que se subdividieron en dos grupos según la muestra procediese de cordón umbilical (A y V umbilicales, $n = 21$), o precisase punción venosa, entre las primeras 48-72 horas de vida (77 casos entre 09.00-21.00 horas y 42 casos entre 21.00-09.00 horas).

Grupo B. Integrado por 17 niños menores de 18 meses en los que se obtuvo una sola muestra de sangre, en cualquier momento del día (8 casos durante el hemiperíodo día, 09.00-21.00, y 9 casos durante la noche, 21.00-09.00).

Grupo C. Integrado por 206 niños con edades comprendidas entre 18 meses y < 6 años. En 14 de ellos la extracción de la muestra se repartió uniformemente a lo largo de las 24 horas y en los 192 restantes se obtuvieron muestras a las 09.00 h (62 casos), 12.00 h (24 casos), 21.00 h (72 casos) y 24 horas (34 casos).

Grupo D. Constituido por 34 niños con edades comprendidas entre 6 y 8 años (casi todos menores de 7 años), en los que se obtuvo una muestra a las 9 de la mañana. En éste y en los dos grupos siguientes las muestras se obtuvieron durante la realización del Programa de Salud Escolar, en el propio entorno escolar, lo que imposibilitó la obtención de los estadios de maduración de Tanner.

Tabla I Concentración de melatonina (aMT) en recién nacidos normales

Grupo	n	Cordón umbilical		Período neonatal precoz 48-72 h	
		AU	VU	n	
09.00-21.00 h	21	26,2 ± 13,6	35,6 ± 25,2	77	147,23 ± 24,07
21.00-09.00 h	21	75,1 ± 13,1	84,3 ± 33,8	42	146,35 ± 31,97

Grupo E. Integrado por 61 niños sanos con edades entre 8 y 12 años (la gran mayoría entre 11-12 años).

Grupo F. Formado por 31 adolescentes con edades comprendidas entre 13-15 años (la gran mayoría entre 13-14 años).

A pesar de que no podamos aportar la clasificación por estadios de Tanner del material humano en estudio, podemos afirmar que en base a la determinación de la concentración sérica de testosterona, FSH y LH en niños, y de estradiol, FSH y LH en niñas (valores no aportados en el presente trabajo), los grupos de edad puberal quedan perfectamente diferenciados entre sí, al menos desde un punto de vista hormonal.

Una vez obtenidas, las muestras fueron centrifugadas y congelado el plasma a -20°C hasta la determinación de aMT por radioinmunoanálisis, mediante un kit comercializado por WHB (Box 19018, S-161, Bromma, Suecia), tras proceder a la extracción de la muestra⁽¹⁷⁾. El procedimiento se inicia con la mezcla de 2 ml de buffer fosfato 0,05 M (pH 7,5) y 1 ml de suero. La mezcla se extrae con 5 ml de diclorometano y se desecha la porción acuosa, añadiéndose 1 ml de ClNa 0,1 M. Tras la centrifugación, la parte orgánica se filtra usando pipetas de Pasteur a través de fibra de vidrio y posteriormente se evapora mediante desecación bajo una corriente de aire. El residuo se disuelve en 0,5 ml de buffer fosfosalino (fosfato 0,05 M, pH 7,5, 0,14 M ClNa, conteniendo 0,1% de gelatina).

Una mezcla de 200 µl del extracto sérico o de una solución estándar de melatonina y 100 µl [³H]melatonina (New England Nuclear Co., Boston, Mass) se diluyó con un buffer fosfosalino que contenía 0,1% de gelatina, obteniéndose 1.800 cpm/100 µl. La mezcla se agitó en un tubo vórtex y fue posteriormente incubada durante 1 h a 4°C. Después de la centrifugación, se disolvió el precipitado en 200 µl de NaCl 0,1 N, añadiéndose 300 µl de agua destilada. El líquido de escintilación aportado por Biofluor, New England Nuclear Co., se usó para el conteo. Los coeficientes de variación intra- e inter-ensayo fueron del 11,3 y 16,3%, respectivamente. El porcentaje de recuperación de la melatonina añadida fue del 84,4% y la sensibilidad del procedimiento de 5 pg/ml. Se presentaron los valores medios ± desviación estándar (DS) de cada grupo.

Resultados

Conviene recordar que todos los valores (pg/ml) aquí expresados (Tablas I y II) se refieren a niños normales, sin ante-

Tabla II Concentración de melatonina (aMT) en lactantes y niños normales

Edad	Nº casos	Hora de extracción	X ± DS
3 ≤ 18 meses	8	09-21	34,51 ± 8,83
3 ≤ 18 meses	9	21-09	43,04 ± 21,9
18 meses ≤ 6 años	10	09-21	19,92 ± 6,22
18 meses ≤ 6 años	4	21-09	62,25 ± 21,77
18 meses ≤ 6 años	62	09.00	60,80 ± 100,58
18 meses ≤ 6 años	24	12.00	56,12 ± 76,10
18 meses ≤ 6 años	72	21.00	52,20 ± 66,20
18 meses ≤ 6 años	34	24.00	54,05 ± 50,08
6-8 años	34	09.00	35,54 ± 9,17
>8 ≤ 13 años	61	09.00	25,28 ± 7,16
13-15 años	31	09.00	31,14 ± 8,29
6-11 años	3	09-21	27,03 ± 6,2
6-11 años	4	21-09	67,05 ± 6,27

cedentes ni patología endocrino-metabólica ni neurológica. Se han agrupado en función de la edad (recién nacidos: tabla I; lactantes, preescolares, prepúberes, púberes y adolescentes: tabla II), así como según el momento horario de extracción de la muestra. Los distintos horarios de extracción y el tamaño de las muestras pueden justificar una cierta variabilidad de nuestros datos en relación a los patrones de normalidad habitualmente aceptados, que difieren según el momento de extracción de la muestra.

En sangre de cordón umbilical, la concentración de aMT tanto en arteria como en vena umbilical es muy similar (26,2 vs 35,6 entre las 09.00-21.00 h; y 75,1 vs 84,3 pg/ml entre las 21.00-09.00 h), con un valor superior en vena que no llega a alcanzar significación estadística. En el período neonatal precoz (48-72 horas de vida), la cifra de aMT se incrementa de modo importante (147,23 durante el día vs 146,35 pg/ml en horas nocturnas), sin apreciarse diferencias entre el día y la noche.

Nuestros datos ponen de manifiesto una mayor secreción nocturna de melatonina en todos los grupos de edad salvo en el período neonatal precoz. Se expresan las medias ± DS en cada horario y grupo de edad. Los valores reseñados en niños a partir de los 3 meses de vida se concentran en las tres horas siguientes a las 09.00 y 21.00, hecho que nos impide representar una distribución a lo largo de las 24 horas con un «n» suficiente en cada hora y grupo de edad como para representar un ritmo típico de secreción.

En las determinaciones a las 09.00 horas observamos un valor máximo de 60,8 ± 100,58 en el grupo C, que pasa a ser de 35,54 ± 9,17 entre los 6-8 años (ambos inclusive) con diferencias significativas (p < 0,001), con un descenso añadido (25,28 ± 7,16) en los mayores de 8 y menores de 13 años (p < 0,001).

En la etapa puberal (13-15 años, ambos inclusive) hay un incremento de la melatonina plasmática, que es de 31,14 ± 8,29 pg/ml y alcanza significación estadística (p < 0,01) en relación al grupo formado fundamentalmente por niños de 11 años. A pe-

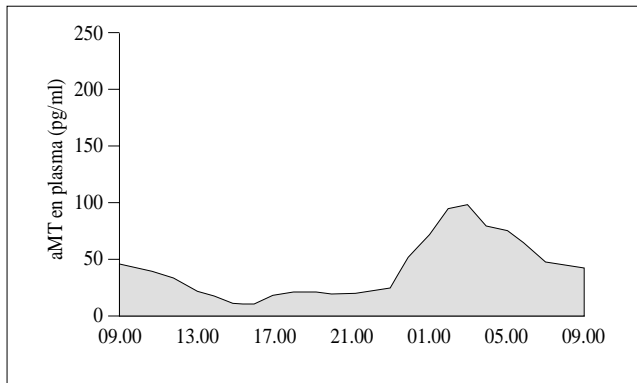


Figura 3. Variación diaria de la melatonina del conjunto de 38 niños normales de edades comprendidas entre los 6 meses y 13 años, mediante la obtención de una muestra por niño. El perfil normal de secreción de aMT se hace evidente al distribuirse los casos a lo largo de las 24 horas. *Modificada de Molina y cols.⁽⁸²⁾*

sar de este incremento, la cifra de aMT en niños puberales es inferior a la obtenida en el grupo de niños de 6-8 años.

Sólo en un grupo de 38 niños que abarcan todas las edades pediátricas y que se distribuyen a lo largo de las 24 horas y que aportan no más de 1-2 puntos para cada hora, se hace evidente el dibujo de una curva de secreción circadiana típica (Fig. 3). Cada uno de estos niños sólo aporta un punto a la curva y la mayoría tiene entre 1-17 meses (19 niños). Diez de ellos, entre 18-71 meses y nueve más, entre 6-14 años.

Discusión

El presente trabajo pretende recoger las concentraciones plasmáticas de aMT en niños normales de nuestro entorno, clasificados por grupos de edad y momento horario de extracción de la muestra, y al hilo de ellas comentar las cuestiones más candentes de la pinealología, ciencia con poco más de 30 años de vida pero en pleno auge. No clasificamos nuestros datos en función del sexo, puesto que un análisis previo puso de manifiesto, de acuerdo con la literatura, una ausencia de diferencias en la secreción pineal entre niños y niñas.

En lo que se refiere a la secreción de melatonina, la glándula pineal es activa únicamente durante la noche, al igual que en todos los mamíferos estudiados⁽³⁾. Las concentraciones de aMT obtenidas durante las horas diurnas pueden ser un «ruido» (reflejo del grado de metabolización hepática y eliminación urinaria de cada individuo) y/o ser de procedencia extrapineal (principalmente en el tracto gastrointestinal⁽⁴⁸⁾, posible punto de síntesis/secreción de aMT no estudiado en seres humanos).

aMT en vasos umbilicales

Nuestro primer grupo corresponde a mediciones en arteria y vena umbilicales, con muestras procedentes de recién nacidos normales a término, poniéndose de manifiesto la presencia de un ritmo diario de aMT tanto en arteria como en vena umbilicales, con una correlación lineal positiva entre ambas concen-

traciones y la constatación de una mayor tasa en vena umbilical (sangre de procedencia materna)⁽¹⁹⁾. Se desprende una aportación significativa de la pineal materna a la cifra total de aMT, no pudiéndose dilucidar si inicialmente su ritmo de secreción es un reflejo del propio de la madre o si lo sustenta la pineal fetal.

aMT en recién nacidos

Los hallazgos en cordón umbilical difieren claramente de los obtenidos en muestras procedentes de recién nacidos durante las primeras 72 horas de vida, en las que se hace evidente: 1) La ausencia de fluctuaciones significativas en la concentración plasmática de aMT. 2) La falta de variación día-noche; esto es, la desaparición del ritmo diario presente en vasos umbilicales y señalado en el párrafo anterior, y 3) no obstante, en el período neonatal precoz y respecto a los valores en vasos umbilicales, el valor absoluto de aMT se incrementa de modo importante, probablemente debido a la inmadurez hepática fisiológica con menor tasa de metabolización.

De los datos expuestos se extrae la conclusión de que el ritmo diario evidenciable en sangre de cordón es de origen materno, y que la pineal del recién nacido es incapaz de imprimir a su secreción tal periodicidad circadiana⁽²⁰⁾.

En otro trabajo de nuestro grupo pudimos demostrar que en recién nacidos sanos sometidos a fototerapia (por tanto, tenían cubiertos los ojos en el momento de extracción de la muestra) la pineal, a pesar de no imprimir una variación circadiana a su secreción, es funcional y capaz de responder a los cambios en la tasa de luz ambiente de modo similar al adulto⁽²¹⁾. Debemos recordar que la luz suprime la secreción endógena de aMT (incluso la luz de una lámpara durante las horas nocturnas⁽²²⁾), y que la luz al amanecer es el sincronizador fundamental de su ritmo circadiano^(5,23), ocurriendo en las horas nocturnas una activación de la glándula pineal. La tasa media de melatonina en nuestros recién nacidos en el tercer día de vida fue de $142,61 \pm 14,94$ pg/ml, que tras ser sometidos al menos a 24 horas de fototerapia pasó a $239,79 \pm 19,61$ pg/ml.

Melatonina y ritmos circadianos

Una de las principales acciones de la melatonina es la sincronización de ritmos biológicos, que se ejercería a través de sus receptores a nivel del centro generador hipotalámico, el núcleo supraquiasmático. Se ha mostrado su utilidad terapéutica en el alivio de los trastornos que aparecen en los vuelos transmeridianos (jet-lag, sobre todo en dirección Este)⁽¹⁰⁾.

Se ha propuesto que en el síndrome de muerte súbita (SIDS) habría un fallo determinado genéticamente en la maduración del sistema fotoneuroendocrino (Fig. 2), causado por una ausencia genética o mutación de la enzima pineal N-acetil-transferasa (NAT), enzima limitante de la producción de aMT⁽²⁴⁾. Al fallar la síntesis pineal de aMT ocurriría una distorsión progresiva de otras respuestas hormonales como pudieran ser la serotonina, progesterona y catecolaminas. El exceso de catecolaminas es tóxico para corazón y cerebro. En el SIDS están presentes tres características epidemiológicas muy interesantes a este respec-

to; adopta un patrón: 1) Circunual (exceso de muertes en invierno). 2) Circadiano (durante la noche, al amanecer), y 3) ontogenético (ocurre después de las primeras semanas, durante los 3-4 primeros meses⁽²⁵⁾). Sturmer y cols.⁽²⁶⁾ han señalado que la concentración de aMT en LCR ventricular en casos de SIDS es significativamente menor que en lactantes de edad similar fallecidos por otra causa. En sangre también hubo una menor concentración de aMT, aunque no alcanzó significación estadística.

Conviene recordar aquí que durante los primeros meses de vida el patrón hormonal es sustancialmente diferente al encontrado sólo unos meses más tarde. El eje hipotálamo-hipofisario está activo, ocurriendo una elevada secreción de FSH y LH con el consiguiente incremento de la actividad gonadal y bajos niveles circulantes de aMT; situación parecida a la pubertad que se invierte a partir del tercer o cuarto mes, cuando se establece el ritmo circadiano de secreción típico de la melatonina⁽²⁷⁾ y el eje hipofiso-gonadal entra en una fase silente que durará hasta la pubertad⁽²⁸⁾.

En la depresión y en otras patologías psiquiátricas, que con frecuencia asocian una alteración de ritmos circadianos, se ha demostrado un ritmo de melatonina anómalo⁽²⁹⁾ con una alteración del cociente melatonina/cortisol por descenso del numerador e incremento del denominador⁽³⁰⁾.

Las aportaciones de la literatura en el área emergente de la cronobiología y cronofarmacología⁽³¹⁻³³⁾ son muy abundantes, aunque escasas en nuestro país y más aún en el ámbito pediátrico⁽³⁴⁻³⁶⁾. Concretamente, los efectos por dosificación farmacológica de aMT pueden ser contrapuestos dependiendo del momento de administración, como veremos más adelante.

Variación de la producción de aMT en función de la edad

Los trabajos del grupo de Attanasio y Gupta ponen de manifiesto que el ritmo circadiano típico de secreción de aMT está presente a partir del tercer mes de vida postnatal^(27,37), aseveración que por el momento no podemos ratificar en nuestro grupo de lactantes por un insuficiente número de muestras. No obstante, un grupo de nuestros niños entre 3 meses y 11 años sí presenta un ritmo circadiano típico, con mínimos niveles diurnos y elevados durante la noche (Fig. 2).

Actualmente, se acepta de modo unánime que la máxima secreción de aMT ocurre durante la infancia, con un pico máximo en el segundo año de vida, iniciándose a partir de este momento un descenso, tanto por caída de los valores absolutos como por aplanamiento de su ritmo circadiano^(15,16,38-40). Este hecho ha llevado a plantear que la pineal juega su función primordial durante la edad pediátrica y que su estudio en estos grupos de edad puede ayudarnos a desvelar la función primordial de la glándula pineal en la especie humana.

aMT y desarrollo puberal

Una revisión reciente sobre este apartado ha sido publicada por Anita Cavallo, pediatra, en *J Pineal Res*⁽⁴¹⁾. En los animales de reproducción estacional la melatonina juega un papel antigonal evidente: la pinealectomía quirúrgica o funcional

(exposición a luz continua) conlleva que el animal ovule, mientras que la administración de aMT o la oscuridad continua provoca una regresión gonadal^(42,43). En el ser humano se ha propuesto que la melatonina es la hormona que a elevadas concentraciones mantiene inhibido el generador hipotalámico de pulsos de GnRH^(44,45), pero que su descenso brusco en el período prepuberal^(46,47) junto con su descenso mantenido posterior facilitaría la aparición de la pubertad⁽⁴⁸⁾. La teoría de la catástrofe puberal⁽⁴⁴⁾ se asienta en que: 1) la funcionalidad pineal se mantiene constante a lo largo del tiempo, pero 2) el peso corporal del niño va en aumento y se produce una dilución de la melatonina secretada con el consiguiente descenso de sus concentraciones plasmáticas. Con lo cual, 3) al situarse de modo continuado la tasa de aMT en su acrofase (aproximadamente 02.00 horas) por debajo de una concentración crítica (estimada en 120 pg/ml) se liberaría el centro generador hipotalámico de pulsos de GnRH, hecho que por sí solo justifica la aparición de la pubertad⁽⁴⁹⁻⁵¹⁾.

Para Cavallo⁽⁵²⁾ el pico nocturno de melatonina sigue una tendencia lineal descendente tanto con la edad como con el desarrollo puberal, pero al estudiar mediante un análisis de la covarianza si la concentración de aMT está relacionada con el estadio puberal independientemente de la edad, no hubo relación entre melatonina y pubertad con la variable edad como covariante.

Según nuestros datos, aun en muestras tomadas a las 09.00 horas (la glándula pineal no está en el momento de máxima actividad) se evidencia un descenso significativo de los valores de aMT entre los 6 y 11 años ($p < 0,001$), en ambos sexos, como han puesto de manifiesto otros autores con muestras tomadas después de medianoche^(15,47). Por otra parte, y a pesar de que según nuestros datos la concentración plasmática de aMT se incrementa de modo significativo ($p < 0,01$) conforme avanza la pubertad (11 a 14 años), los valores alcanzados a los 14 años son inferiores a los presentes en el grupo de 6 años y la diferencia se queda próxima a la significación estadística⁽⁵³⁾. La posibilidad de tomar muestras en el período de mayor funcionalismo pineal (aproximadamente entre la medianoche y las 05.00 h del día), podría hacer nuestros datos más concluyentes, como ya se demostró en otros estudios⁽³⁹⁾. A este respecto se ha puesto de manifiesto la gran utilidad de las mediciones en saliva⁽⁵⁴⁾, fluido en el que la aMT alcanza 1/3 de su concentración plasmática pero manteniéndose en todo momento una alta correlación sangre-saliva⁽⁵⁵⁾.

aMT y crecimiento lineal

En la neuroregulación de la hormona de crecimiento⁽⁵⁶⁾, la melatonina no es sino uno de los múltiples factores posiblemente implicados, siendo los datos al respecto escasos y hasta cierto punto contradictorios. Mientras para Gupta⁽³⁷⁾ la aMT es un marcador de la maduración ósea, desde los trabajos iniciales de Smythe y Lazarus⁽⁵⁷⁻⁵⁹⁾ varios autores han señalado que la administración de aMT aumenta la secreción de GH, mientras que la respuesta difiere tras un test de estímulo. Para unos autores,

suprime la liberación de GH a la hipoglucemia insulínica⁽⁵⁹⁾, mientras que para otros incrementa la secreción de GH en respuesta a GRH⁽⁶⁰⁾. El estímulo de la aMT sobre la liberación de GH probablemente se deba a una disminución de la liberación hipotalámica de somatostatina⁽⁶¹⁾.

En niños, la respuesta de GH a la administración de aMT parece ser diferente según la edad y el grado de desarrollo puberal. En la etapa prepuberal la aMT produjo un descenso de la liberación de GH, mientras que no hubo modificación alguna en niños puberales⁽⁶²⁾.

Nuestros datos en niños estudiados por talla baja, la mayoría en edad prepuberal y diagnosticados de retraso constitucional del crecimiento o talla baja familiar, muestran que tras un estímulo con clonidina aumenta la GH y disminuye la secreción de aMT⁽⁶³⁾. El *test de la clonidina* es uno de los estímulos más usados en la valoración de un posible déficit de GH, dado que estimula su producción al inducir la liberación de GRH. La implicación de los receptores α_2 en el control de la síntesis de aMT se pone de manifiesto, además de por la supresión de aMT por clonidina (α_2 agonista) (previamente descrita)⁽⁶⁴⁾, por el incremento de aMT inducido por Organon 3770, un antagonista α_2 ⁽⁶⁵⁾. A pesar de todos los datos expuestos, y de acuerdo con García Patterson y cols.⁽⁶⁶⁾, queda por saber si la melatonina tiene una importancia fisiológica en la neuroregulación de GH⁽⁶⁷⁾.

En la secuencia de eventos que conducen a la producción de aMT, es el β -receptor pinealocítico el mecanismo fundamental de membrana implicado. Los fármacos β -bloqueantes inhiben la secreción pineal de aMT⁽⁶⁸⁾, como hemos tenido ocasión de documentar en nuestros pacientes estudiados por baja talla (observaciones aún no publicadas), sometidos a *ejercicio más propranolol* como test de estímulo de GH.

aMT y sistema inmune

En los últimos años se han acumulado evidencias acerca de una interacción bidireccional entre la glándula pineal y el sistema inmune, existiendo varias revisiones al respecto⁽⁶⁹⁾. Ya en el primer tercio de siglo se estableció el concepto de que el timo y la glándula pineal actúan conjuntamente regulando las células, los tejidos y el crecimiento del organismo. Varias décadas después se demostró que la administración de extractos pineales provoca hiperplasia linfoide e hipertrofia tímica y que la pinealectomía neonatal conlleva atrofia tímica. Además, los sistemas hematopoyético e inmune sufren una acusada variación circadiana tanto en el número como en la función de sus células⁽⁷⁰⁾.

El grupo de Maestroni y Pierpaoli ha realizado las aportaciones más significativas en este campo, demostrando inicialmente que la exposición de ratones a luz continua provoca en las sucesivas generaciones una atrofia tímica y esplénica, con reducida producción de anticuerpos a antígenos T-dependientes⁽⁷¹⁾. Además, diferentes manipulaciones farmacológicas (v.g.: propranolol, p-clorofenilalanina -inhibidor de la síntesis de serotonina-) que inactivan la glándula pineal, provocan un déficit inmunitario objetivable y reversible con aMT⁽⁷²⁾. Y, por otra

parte, la administración farmacológica de aMT incrementa, en ratones, la respuesta de anticuerpos a la inmunización secundaria con eritrocitos de carnero (efecto *booster*). Estas propiedades de la aMT se consiguen tras su administración vespertina y carece de ellas si se administra durante la mañana⁽⁷²⁾ (de modo similar a lo que ocurre con la actividad de la aMT sobre el eje reproductivo⁽⁹⁾). El efecto inmunoestimulante de la aMT se ejerce sobre la respuesta inmunológica T-dependiente sin alterar la respuesta de anticuerpos a los antígenos, y probablemente esté mediado por el sistema opioide endógeno, dado que estos experimentos no se pueden reproducir *in vitro* y que la actividad de la aMT es suprimida por los antagonistas de los opioides endógenos^(73,74).

Como queda dicho, la interacción entre glándula pineal y sistema inmune es bidireccional, siendo capaz el sistema inmune de modificar la síntesis de aMT a nivel pineal y en otros tejidos, aunque el número de aportaciones a este respecto es significativamente menor. A modo de ejemplo, el γ -interferón incrementa la producción de aMT *in vitro*⁽⁷⁵⁾.

En el eczema atópico y en la psoriasis, trastornos con base inmunológica, se ha descrito una alteración en las concentraciones y en el ritmo de secreción de aMT^(76,77).

Nuestro grupo ha podido demostrar como la inmunoterapia específica en niños alérgicos al olivo, es capaz de modificar la secreción pineal de melatonina: disminuye la cifra total de aMT y las relaciones inicialmente existentes entre melatonina y β -endorfina desaparecen una vez completada la pauta de inmunoterapia⁽⁷⁸⁾.

aMT, epilepsia y estrés

Los primeros trabajos acerca de la participación de la pineal en el control de la hiperexcitabilidad neuronal datan de comienzos de la década de los setenta, cuando el grupo de RJ Reiter, fundamentalmente, demostró que las convulsiones por pinealectomía en animales de experimentación eran inhibidas por extractos pineales y/o aMT⁽⁷⁹⁻⁸¹⁾, y Anton-Tay y cols.^(82,83) lograron mejorar (mediante la dosificación farmacológica de aMT, en un estudio no controlado) a pacientes con epilepsia intratable y enfermedad de Parkinson. Desde entonces han sido numerosas las aportaciones, fundamentalmente en el campo experimental⁽⁸⁴⁾.

Hemos tenido la oportunidad de demostrar que la secreción de melatonina aumenta en el curso de una convulsión, ya sea febril o epiléptica⁽⁸⁵⁻⁸⁷⁾ en determinaciones plasmáticas hechas minutos después de la convulsión, y que su valor ha retornado a cifras basales una hora después de la primera determinación⁽⁸⁷⁾. La mayor respuesta pineal (concentración de aMT, pg/ml) se obtiene en las convulsiones febriles, aunque su ritmo de secreción desaparece por completo. En las convulsiones epilépticas se obtiene un ascenso menor de la tasa de aMT, mientras que su ritmo de secreción se conserva aunque con un retardo de fase (el momento de máxima secreción se sitúa sobre las 05.00 horas en vez de las 02.00 horas). En un caso de epilepsia mioclónica progresiva en el que pudimos hacer varias determinaciones nocturnas de aMT, también se comprobó un re-

tardo de fase de la misma magnitud (datos no publicados). El menor ascenso de la aMT con la repetición de las crisis (grupo de epilépticos) puede deberse a *agotamiento pineal* ante el estrés repetido⁽⁸⁵⁾. Un dato de interés añadido es que a mayor duración de la convulsión mayor concentración de aMT⁽⁸⁸⁾. Ante distintos tipos de estrés, la pineal responde con un incremento de su secreción^(89,90). Sin embargo, ante un estrés crónico, por ejemplo de origen psicosocial como ocurre en el síndrome de carencia afectiva y que conlleva un retraso de crecimiento, disminuye la producción de aMT en relación a un grupo de niños normales y en muestras tomadas a las 09.00 horas^(91,92).

aMT, envejecimiento y cáncer

Las teorías acerca de la implicación de la melatonina en el proceso de envejecimiento y en el cáncer⁽⁹³⁻⁹⁵⁾ parten de su importancia en un amplio número de actividades biológicas, del paulatino descenso en su producción conforme avanza la vida y del hallazgo revolucionario de ser el más potente antioxidante conocido. Así: 1) el debilitamiento del ritmo de aMT con la edad desincronizaría otros ritmos circadianos, haciendo al sujeto más susceptible a las enfermedades relacionadas con la edad⁽⁹⁶⁾; 2) la melatonina sería una señal fundamental para el envejecimiento programado genéticamente a nivel celular y el debilitamiento de su señal haría envejecer todas las células a igual velocidad. Teoría reforzada por las recientes observaciones acerca de su poder neutralizante de radicales libres⁽¹¹⁾, puesto que se acepta que la magnitud del envejecimiento está en relación directa con el daño acumulado por la actividad de los radicales libres, el más potente de ellos, el -OH. La aMT tiene un marcado efecto protector de macromoléculas, especialmente el ADN⁽⁹⁷⁾, factor fundamental en la cuantificación de la velocidad del envejecimiento. Además de su actividad intrínseca, la aMT aumenta la actividad de la enzima glutatión peroxidasa, reduciendo aún más el daño oxidativo. Estas propiedades se manifiestan sobre todo en el órgano más susceptible al daño oxidativo por su incapacidad para regenerarse, el sistema nervioso central.

El padre de la pinealología desde sus inicios en los años sesenta hasta nuestros días, el Prof. RJ Reiter, del *Department of Cellular and Structural Biology, Health Science Center at San Antonio, University of Texas*, decía recientemente en una Reunión Internacional celebrada en Oviedo, organizada por el Dr. Menéndez-Peláez y -desgraciada y finalmente celebrada en su memoria* que, después de 30 años dedicado con todo su equipo y un gran número de colaboradores de todo el mundo fundamentalmente a demostrar en el ser humano el papel de la pineal en el desarrollo sexual y en la reproducción, había llegado en los últimos años a convencerse de que esta participación, si finalmente se demuestra de modo fehaciente, ocupará un lugar secundario en la verdadera función pineal: *con todas las precauciones necesarias, decía el Prof. RJ Reiter, en este foro pue-*

* *Melatonin: Mechanism of action and therapeutic implications. Curso Internacional. Departamento de Morfología y Biología Celular. Universidad de Oviedo, 15-16 Diciembre 1994.*

do afirmar que la melatonina es la hormona de la vida.

A esta conclusión tan espectacular y revolucionaria van llegando la mayoría de pinealólogos, al comprobar que la aMT es el más potente antioxidante conocido^(11,12), muy por encima del glutatión, vitaminas E y C, y otras sustancias. Como puntos de interés en este campo podríamos destacar: 1) la aMT incrementa un 20% la vida media de los ratones así como su calidad de vida⁽⁹⁸⁾ y, en general, que tiene propiedades anti-envejecimiento⁽⁹⁹⁾; 2) es capaz de suprimir la aparición de cataratas inducidas experimentalmente por tóxicos potentes⁽¹⁰⁰⁾; 3) la aMT multiplica la tasa de anticuerpos obtenida en la revacunación de un animal de experimentación cuando se administran simultáneamente⁽¹⁰¹⁾; 4) estudios en curso indican que administrada en la fase de inducción a la remisión de una leucemia disminuye el número y la intensidad de las aplasias medulares (incrementa el recuento leucocitario y las demás series hematológicas)⁽¹⁰²⁾.

Mecanismo de acción de la melatonina

Durante mucho tiempo se ha investigado por definir y caracterizar el receptor de membrana que como hormona le corresponde a la aMT⁽¹⁰³⁾. Así, se ha llegado a establecer, por ejemplo, que los efectos sobre el eje reproductivo están mediados por receptores en la *pars tuberalis* hipofisaria⁽¹⁰⁴⁾, y que la sincronización por aMT de los ritmos biológicos estaría mediada por sus receptores a nivel del núcleo supraquiasmático (reloj biológico humano)⁽¹⁰⁵⁾.

Recientes estudios señalan que sus propiedades antioxidantes no se deben a interacción con receptor alguno, por lo que la aMT no actuaría sólo como una hormona clásica⁽¹⁰⁶⁾, sino que, como parece lógico dadas sus propiedades lipófilas, penetraría en el citoplasma⁽¹⁰⁷⁾, uniéndose a la calmodulina (proteína que une el calcio iónico intracelular y media sus principales efectos reguladores)⁽¹⁰⁸⁾ y modificando la actividad celular a concentraciones fisiológicas, directamente o por medio de su principal metabolito intracelular, la N-acetil-5-metoxi-kinurenamina⁽¹⁰⁹⁾. Su principal función sería la de neutralizar radicales libres, restaurando lesiones cromosómicas⁽¹¹⁰⁾. Relacionado con estas propiedades, que podríamos llamar de *lubricante fisiológico*, se ha visto que la melatonina está presente en fósiles unicelulares primitivos, cuando en las etapas iniciales de la evolución filogenética no eran necesarios los receptores de membrana como mecanismos de comunicación intercelular⁽¹¹¹⁾, pero ya estaba presente un metabolismo aeróbico y era necesario proteger la integridad de las células y de sus organelas. Por tanto, a través de sus receptores de membrana o directamente a nivel intracelular^(112,113), la aMT puede influenciar virtualmente cualquier evento en cada célula del organismo.

Modificación dietética y/o farmacológica de la secreción pineal de melatonina

Ya hemos comentado que los β -bloqueantes⁽⁶⁸⁾, y en menor medida las sustancias con propiedades α -adrenérgicas^(63,65), modifican la secreción pineal de melatonina en el ser humano. De igual manera, el aporte dietético de triptófano⁽¹¹⁴⁾ y la adminis-

Tabla III Trastornos nerviosos (incluyendo los oculares) y neuromusculares que han sido relacionados en su patogenia con los radicales libres, y en los que la melatonina pudiera tener capacidad preventiva o paliativa

Sistema nervioso central o periférico	Ojo
Déficit de vitamina E	Cataratogénesis
Daño neurotóxico	Hemorragia ocular
Lesiones por O ₂ hiperbárico	Daño degenerativo retiniano
Enfermedad de Parkinson	Fibroplasia retrolental
Lipocefuscosis ceroides neuronal	
Encefalomiéritis alérgica	
Enfermedad de Alzheimer	
Exacerbación de lesiones traumáticas	
Esclerosis múltiple	

Tomado de Reiter y cols.⁽¹¹⁾

tración de vitamina B₆⁽¹¹⁵⁾, habiéndose valorado la administración de triptófano como test de función pineal en humanos^(116,114).

Según nuestros datos, la administración de 20 mg/kg de triptófano oral representa un estímulo para la producción pineal de melatonina cuando se administra durante las horas nocturnas⁽¹¹⁴⁾, de modo similar a lo que ocurre con la administración i.v.

Posibles usos terapéuticos de la melatonina

A este respecto es importante tener en cuenta el hecho de que la melatonina es una sustancia endógena, que se sintetiza con facilidad con un coste bajo, y que es atóxica^(117,118). Aun administrada en dosis muy elevadas provoca una mínima repercusión hormonal^(119, 120) y a nivel clínico, una sensación de bienestar, sedación e inducción del sueño con una disminución de su latencia e incremento de su duración, que va acompañado de un descenso de la temperatura oral^(117,121). Por tanto, se abre un campo amplísimo respecto a las posibilidades de administración clínica en Pediatría, sobre todo en aquellas patologías en las que predomine un estrés oxidativo (Tabla III)⁽¹¹⁾, con un exceso de producción de radicales libres (broncodisplasia pulmonar, fibroplasia retrolental, convulsiones intratables, ...), más aún si su indicación se hace al diagnóstico inicial, cuando aún no se han inducido alteraciones cicatriciales irreversibles⁽¹¹⁾. Con una dosis oral entre 0,1-0,3 mg se genera un pico de aMT dentro del intervalo normal observado durante la noche en personas no tratadas^(117,120).

Nuestro grupo de trabajo ha obtenido con aMT resultados esperanzadores, pendientes de publicación, en una niña de 2 años afecta desde los seis meses de vida de un cuadro de convulsiones intratables, diagnosticada como epilepsia mioclónica severa de la infancia. El uso clínico de la aMT fue autorizado como medicamento compasivo por la Dirección General de Farmacia y Medicamentos, habiéndose obtenido la casi total desaparición

de las crisis con una normalización del EEG intercrítico y una rehabilitación del nivel de adquisiciones neuromotoras previas. Según las aportaciones recogidas de la literatura, las alteraciones cerebrales en caso de epilepsia pueden deberse a: 1) alteraciones cerebrales inespecíficas⁽⁸⁴⁾; 2) déficit a nivel cerebral de la bomba de sodio⁽¹²²⁾; 3) déficit cerebral del complejo inhibidor GABA/BNZ⁽¹²³⁾, y 4) estrés oxidativo⁽¹¹⁰⁾.

Asimismo, otros investigadores han obtenido resultados esperanzadores con el uso de aMT y un derivado metilado de la vitamina B₁₂ (methyl-B₁₂) en un caso de rechazo escolar asociado a una alteración de ritmos biológicos⁽¹²⁴⁾.

Quisiéramos estimular a la comunidad pediátrica española a iniciar una exploración en este fascinante campo clínico, en el que a nivel experimental la ciencia española ocupa un lugar de privilegio a nivel mundial.

Bibliografía

- Lerner AB, Case JD, Takahashi Y, Lee TH, Mori W. Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. *J Am Chem Soc* 1958;**80**:2587.
- Arendt J. Melatonin. *Clinical Endocrinol* 1988;**29**:205-229.
- Reiter RJ. The pineal and its indole products: Basic aspects and clinical applications. En: Cohen MP, Foà PP (eds). The brain as an endocrine organ. *Endocrinology and Metabolism*, vol 3. New York: Springer-Verlag, 1989; págs. 96-149.
- Vaughan GM. Melatonin in humans. *Pineal Res Rev* 1984;**2**:141-201.
- Lewy AJ, Newsome DA. Different types of melatonin circadian secretory rhythms in some blind subjects. *J Clin Endocrinol Metabol* 1983;**56**:1103-1107.
- Waldhauser F, Vierhapper H, Pirich K. Abnormal circadian melatonin secretion in night-shift workers. *N Engl J Med* 1986;**315**:1614.
- Reiter RJ. Normal patterns of melatonin levels in the pineal gland and body fluids of humans and experimental animals. *J Neural Transm* 1986;**21**(Suppl):35-54.
- Tamarkin L, Baird CJ, Almeida OFX. Melatonin: a coordinating signal for mammalian reproduction? *Science* 1979;**227**:714-720.
- Goldman BD. The physiology of melatonin in mammals. *Pineal Res Rev* 1983;**1**:145-182.
- Arendt J. Jet-lag and melatonin. *Lancet* 1986;**2**:698-699.
- Reiter RJ, Poeggeler B, Tan D, Chen L, Manchester LC, Guerrero JM. Antioxidant capacity of melatonin: A novel action not requiring a receptor. *Neuroendocrinol Lett* 1993;**15**:103-116.
- Armstrong SM, Redman JR. Melatonin: A chronobiotic with anti-aging properties? *Medical Hypotheses* 1991;**34**:300-309.
- Romijn HJ. Minireview. The pineal, a tranquillizing organ? *Life Sci* 1978;**23**:2257-2274.
- Balzer I, Pöggeler B, Hardeland R. Circadian rhythms of indoleamines in a dinoflagellate, *Gonyaulax polyedra*: Persistence of melatonin rhythm in constant darkness and relationship to 5-methoxytryptamine. En: Touitou Y, Arendt J, Pévet P (eds). Melatonin and the pineal gland - From basic science to clinical application. Amsterdam: Elsevier, 1993; págs. 183-186.
- Attanasio A, Borrelli P, Gupta D. Circadian rhythms in serum melatonin from infancy to adolescence. *J Clin Endocrinol Metab* 1985;**61**:388-390.
- Waldhauser F, Steger H. Changes in melatonin secretion with age and

- pubescence. *J Neural Transm* 1986;**21**(Suppl):183-198.
- 17 Fernández B, Malde JL, Montero A, Acuña D. Relationship between adenohipophyseal and steroid hormones and variations in serum and urinary melatonin levels during the ovarian cycle, perimenopause and menopause in healthy women. *J Steroid Biochem* 1990;**33**:257-262.
 - 18 Huether G, Poeggeler B, Reimer A, George A. Effects of tryptophan administration on circulating melatonin levels in chicks and rats. Evidence for stimulation of melatonin synthesis and release in the gastrointestinal tract. *Life Sci* 1995;**51**:945-953.
 - 19 Muñoz Hoyos A, Rodríguez Cabezas T, Molina Carballo A, Martínez Sempere JJ, Ruiz Cosano C, Acuña Castroviejo D. Melatonin concentration in the umbilical artery and vein in human preterm and term neonates and neonates with acute fetal distress. *J Pineal Res* 1992;**13**:184-191.
 - 20 Muñoz Hoyos A, Jaldo Alba F, Molina Carballo A, Rodríguez Cabezas T, Acuña Castroviejo D. Absence of plasma melatonin circadian rhythm during the first 72 hours of life in human infants. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;**77**:699-703.
 - 21 Jaldo Alba F, Muñoz Hoyos A, Molina Carballo A, Molina Font JA, Acuña Castroviejo D. Light deprivation increases plasma levels of melatonin during the first 72 hours of life in human infants. *Acta Endocrinol* 1993;**77**:699-703.
 - 22 Laakso ML, Hätönen T, Stenberg D, Alila A, Smith S. One-hour exposure to moderate illuminance (500 lux) shifts the human melatonin rhythm. *J Pineal Res* 1993;**15**:21-26.
 - 23 Reiter RJ. The pineal and its indole products: Basic aspects and clinical applications. En: Cohen MP, Foa PP (eds). *The brain as an endocrine organ. Endocrinology and Metabolism*, vol 3. New York: Springer-Verlag, 1989; págs. 97-149.
 - 24 Aguila CM, Castillo JL, Acuña D. La glándula pineal en el niño. II. Mecanismos de regulación y función neuroendocrina. *Fisiopatología tumoral. Bol Pediatr* 1989;**30**:191-203.
 - 25 Weissbluth L, Weissbluth M. Sudden infant death syndrome: a genetically determined impaired maturation of the photoneuroendocrine system. A unifying hypothesis. *J Theor Biol* 1994;**167**:13-25.
 - 26 Sturner WQ, Lynch HJ, Deng MH, Gleason RE, Wurtman RJ. Melatonin concentration in the sudden infant death syndrome. *Forensic Sci Int* 1990;**45**:171-180.
 - 27 Attanasio A, Rager K, Gupta D. Ontogeny of circadian rhythmicity for melatonin, serotonin, and N-acetylserotonin in humans. *J Pineal Res* 1986;**3**:251-256.
 - 28 Forest MG. Pituitary gonadotropin and sex steroid secretion during the first two years of life. En: Grumbach MM, Sizonenko PC, Aubert NL (eds). *Control of the onset of puberty*. Baltimore: Williams and Wilkins, 1989; págs. 451-478.
 - 29 Mendlewicz J, Linkowski P, Branchey L, Weinberg U, Weitzman ED, Branchey M. Abnormal 24 hour pattern of melatonin secretion in depression. *Lancet* 1979;**2**:1362.
 - 30 Wetteberg L, Beck-Friis J, Aperia B, Pettersson U. Melatonin/cortisol ratio in depression. *Lancet* 1979;**2**:1361.
 - 31 Arendt J, Minors DS, Waterhouse JM. Basic concepts and implications. En: Arendt J, Minors DS, Waterhouse JM (eds). *Biological rhythms in clinical practice*. Wright. London, 1989; págs 3-7.
 - 32 Minors DS, Waterhouse JM. Mathematical and statistical analysis of circadian rhythms. *Psychoneuroendocrinology* 1988;**13**:443-464.
 - 33 Lemmer B. Chronopharmacology: time, a key in drug treatment. *Ann Biol Clin* 1994;**52**:1-7.
 - 34 Andrés de Llano JM. Prevalencia y maduración de ritmos biológicos en niños sanos. Estudio a través de variables fisiológicas en el primer trimestre de la vida. Tesis Doctoral. Universidad de Valladolid, 1990.
 - 35 Andrés JM, Medrano MC, Muñoz A, Aldana J, Ardura J. Modificaciones de los ritmos biológicos en patología pediátrica. *Bol Pediatr* 1994;**35**:107-114.
 - 36 Muñoz Hoyos A, Molina Carballo A. Melatonina: interés cronobiológico y patológico. *Bol Pediatr* 1994;**35**:115-126.
 - 37 Gupta D. The pineal gland in relation to growth and development in children. *J Neural Transm* 1986;**21**(Suppl):217-232.
 - 38 Attanasio A, Borrelli P, Gupta D. Circadian rhythms in serum melatonin from infancy to adolescence. *Endocrinology* 1985;**61**(2):388-390.
 - 39 Waldhauser F, Weiszenbacher G, Atazer E, Gisinger B, Waldhauser M, Schemper M, Frisch H. Alterations in nocturnal serum melatonin levels in humans with growth and aging. *J Clin Endocrinol Metabol* 1988;**66**:648-652.
 - 40 Sack RL, Lewy AJ, Erb DL, Vollmer WM, Singer CM. Human melatonin production decreases with age. *J Pineal Res* 1986;**3**:379-388.
 - 41 Cavallo A. Melatonin and Human Puberty - Current Perspectives. *J Pineal Res* 1993;**15**:115-121.
 - 42 Arendt J, Symons AM, English J, Poulyon AL. Melatonin and the seasonal breeding cycle in sheep. En: Reiter RJ, Fraschini F (eds). *Adv Pineal Res vol 7*. Libbey. London, 1987; págs. 135-140.
 - 43 Bartness TJ, Powers JB, Hasting MH, Bittman EL, Goldman BD. The time infusion paradigm for melatonin delivery: What has it taught us about the melatonin signal, its reception, and the photoperiodic control of seasonal responses? *J Pineal Res* 1993;**15**:161-190.
 - 44 Silman R. Melatonin and the human gonadotrophin-releasing hormone pulse generator. *J Endocrinol* 1991;**128**:7-11.
 - 45 Puig-Domingo M, Webb SM, Serrano J, Peinado MA, Corcoy R, Ruscalleda J, Reiter RJ, de Leiva A. Brief report: melatonin-related hypogonadotropic hypogonadism. *N Engl J Med* 1992;**327**:1377-1379.
 - 46 Waldhauser F, Frisch H, Waldhauser M, Weiszenbacher G, Zeitlhuber V, Wurtmann RJ. Fall in nocturnal serum melatonin during prepuberty and pubescence. *Lancet* 1984;**1**:362-365.
 - 47 Waldhauser F, Boepple PA, Schemper M, Mansfield MJ, Crowley WF Jr. Serum melatonin in central precocious puberty is lower than in age-matched prepubertal children. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;**73**:793-796.
 - 48 Argente J. Fundamentos biológicos de la pubertad. *An Esp Ped* 1990;**32**(5):379-388.
 - 49 Sizonenko PC, Aubert ML. Neuroendocrine changes characteristic of sexual maturation. *J Neural Transm* 1986;**21**(Suppl):159-182.
 - 50 Cavallo A, Richards GE, Smith ER. Relation between nocturnal profile and hormonal markers of puberty in humans. *Horm Res* 1992;**37**:185-189.
 - 51 Cavallo A. The pineal gland in human beings: Relevance to pediatrics. *J Pediatr* 1993;**123**:843-851.
 - 52 Cavallo A. Plasma melatonin rhythm in normal puberty: interactions of age and pubertal stages. *J Neuroendocrinology* 1992;**55**:372-379.
 - 53 Molina Carballo A, Muñoz Hoyos A, Martín García JA, Ruiz Cosano CJ, Rodríguez Cabezas T, Acuña Castroviejo D. Analysis of combined melatonin and 5-methoxy-tryptophol variations in boys and girls at different ages. European Society for Clinical Investigation. Comunicación personal. Cambridge, 1995.
 - 54 Bacon CJ, Mucklow JC, Saunders A, Rawlins MD, Webb JKG. A met-

- hod for obtaining saliva samples from infants and young children. *Br J Clin Pharmacol* 1978;**5**:89-90.
- 55 Miles A, Philbrick DRS, Grey JE. Salivary melatonin estimation in assessment of pineal-gland. *Clin Chem* 1989;**35**:514-515.
- 56 Argente J, Pozo J, Barrios V. Neuroregulación de la hormona de crecimiento. *An Esp Ped* 1992;**36**(Supl 50):19-33.
- 57 Smythe GA, Lazarus L. Growth hormone regulation by melatonin and serotonin. *Nature* 1973;**244**:230-231.
- 58 Smythe GA, Lazarus L. Suppression of human growth hormone secretion by melatonin and cyproheptadine. *J Clin Invest* 1974;**54**:116-121.
- 59 Smythe GA, Lazarus L. Growth hormone responses to melatonin in man. *Science* 1974;**134**:1373-1374.
- 60 Valcavi R, Diéguez C, Azzarito C, Edwards CA, Dotti C, Page MD, Scanlon MF. Effect of oral administration of melatonin on GH responses to GRF 1-44 in normal subjects. *Clin Endocrinol* 1987;**26**:453-458.
- 61 Valcavi R, Zini M, Maestroni GJ, Conti A, Porticoli I. Melatonin stimulates growth hormone secretion through pathways other than growth hormone releasing hormone. *Clin Endocrinol* 1993;**39**:193-199.
- 62 Lissoni P, Resentini M, Mauri R, De Medici C, Morabito F, Esposti D, Dibella L, Esposti G, Rossi D, Paarraucini L, Legname G, Fraschini F. Effect of an acute injection of melatonin on the basal secretion of hypophyseal hormones in prepubertal and pubertal healthy subjects. *Acta Endocr* 1986;**111**:305-311.
- 63 Fernández García JM. Análisis de las interrelaciones hormonales entre epífisis e hipófisis tras un tes de estímulo con clonidina. Tesis Doctoral. Universidad de Granada, 1994.
- 64 Grasby PM, Cowen PJ. The effect of clonidine and bright light on plasma melatonin. *Hum Psychopharmacol* 1988;**3**:43-46.
- 65 Palazidou E, Papadopoulou A, Sitsen A, Checkley S. An α_2 adrenoceptor antagonist, Org 3770, enhances nocturnal melatonin secretion in man. *Psychopharmacology* 1989;**97**:115-117.
- 66 García-Patterson A, Schwarzstein D, Puig-Domingo M, Webb SM. Controversias sobre la modulación pineal del crecimiento y desarrollo. *Endocrinología* 1994;**41**(Supl 1):15-18.
- 67 Diéguez C, Page MD, Scanlon MF. Growth hormone neuroregulation and its alterations in disease states. *Clin Endocrinol* 1988;**28**:109-143.
- 68 Cowen PJ, Fraser S, Sammons R, Green AR. Atenolol reduces plasma melatonin concentration in man. *Br J Clin Pharmacol* 1983;**15**:579-580.
- 69 Guerrero JM, Reiter RJ. A brief survey of pineal gland-immune system interrelationships. *Endocr Res* 1992;**18**:91-113.
- 70 Haus H, Lakouta DJ, Swoyer J, Sackett-Lundeen L. Chronobiology in hematology and immunology. *Am J Anat* 1983;**168**:467-517.
- 71 Maestroni GJM, Pierpaoli W. Pharmacologic control of the hormonally mediated immune response. En: Ader R (ed). *Psychoneuroimmunology*. New York: Academic Press, 1981; págs. 405-413.
- 72 Maestroni GJM, Conti A, Pierpaoli W. Role of the pineal gland in immunity. II. Circadian synthesis and release of melatonin modulates the antibody response and antagonizes the immunosuppressive effect of corticosterone. *J Neuroimmunol* 1986;**13**:19-30.
- 73 Lissoni P, Esposti D, Esposti G, Mauri R, Resentini M, Morabito F, Fumagali P, Santagsotino A, Delitala G, Fraschini F. A clinical study on the relationship between the pineal gland and the opioid system. *J Neural Transm* 1986;**65**:63-73.
- 74 Maestroni GJM, Conti A, Pierpaoli W. Role of the pineal gland in immunity. III. Melatonin antagonizes the immunosuppressive effect of acute stress via an opiate mechanism. *Immunology* 1988;**63**:465-469.
- 75 Withyachummarnkul B, Reiter RJ. The pineal, the immune system, and the interferons. *Avd Pineal Res* 1990;**4**:251-258.
- 76 Schwarz W, Birau N, Homstein OP, Heubeck B, Schönberger A, Meyer C, Gottschalk J. Alterations of melatonin secretion in atopic eczema. *Acta Derm Venereol* 1988;**68**:224-229.
- 77 Mozzanica N, Tadini G, Radaelli A, Negri M, Pigatto P, Morelli M, Frigerio U, Finzi A, Esposti G, Rossi D, Fraschini F. Plasma melatonin levels in psoriasis. *Acta Derm Venereol* 1988;**68**:312-316.
- 78 Molina A, Girón F, Muñoz A, Rodríguez T, Acuña D. Effects of immunotherapy on melatonin- β -endorphin relationship in olive pollen-sensitive patients. 1st Locarno International Meeting on Neuroendocrinology. The pineal gland in relation with the immune system and cancer. Locarno, 1993. Personal communication.
- 79 Reiter RJ, Morgan W. Attempts to characterize the convulsive response of parathyroidectomized rats to pineal gland removal. *Physiol Behav* 1972;**9**:203-208.
- 80 Pomerantz G, Reiter RJ. Age dependent changes in the susceptibility of parathyroidectomized, pinealectomized rats to seizures. *Exp Neurol* 1973;**40**:254-257.
- 81 Rudeen PK, Philo RC, Sysmms SK. Antiepileptic effects of melatonin in the pinealectomized mongolian gerbil. *Epilepsia* 1980;**21**:149-154.
- 82 Anton-Tay F, Díaz JL, Fernández-Guardiola A. On the effect of melatonin upon human brain. Its possible therapeutic implications. *Life Sci* 1971;**10**:841-850.
- 83 Anton-Tay F. Melatonin: Effects on brain function. *Adv Biochem Psychopharmacol* 1974;**11**:315-324.
- 84 Acuña D, Fernández B, Del Aguila CM, Gomar MD, Castillo JL. La glándula pineal y los mecanismos de inhibición en el sistema nervioso central. En: Muñoz A, Fernández JM, Acuña D (eds). *Aspectos morfofuncionales y fisiopatológicos de la glándula pineal. Consideraciones de interés pediátrico*. Madrid: Nuevas Creaciones Médicas, 1994; págs. 165-216.
- 85 Molina Carballo A, Acuña Castroviejo D, Rodríguez Cabezas T, Muñoz Hoyos A. Effect of febrile and epileptic convulsions on daily variation in plasma melatonin concentration in children. *J Pineal Res* 1994;**16**:1-9.
- 86 Molina Carballo A, Muñoz Hoyos A, Rodríguez Cabezas T, Acuña Castroviejo D. Day/night variations in melatonin secretion by pineal gland during febrile and epileptic convulsions in children. *Psychiat Res* 1994;**52**:273-283.
- 87 Sánchez Forte M. Análisis de las variaciones circadianas de melatonina y degradación del triptófano tras una crisis convulsiva en la infancia. Tesis Doctoral. Universidad de Granada, 1994.
- 88 Molina A, Muñoz A, Rodríguez R, Acuña D, Moreno F, Ruiz C. Interaction between duration of convulsions, refractory postseizure period and melatonin levels. *Neuroendocrinology* 1990;**52**(Suppl 1): 102.
- 89 Hernández Gómez MV. Estudio de la función pineal (tasas plasmáticas de melatonina) en distintas situaciones de estrés en el niño. Tesis Doctoral. Universidad de Granada, 1992.
- 90 Lynch HJ, Deng MH. Pineal responses to stress. *J Neural Transm* 1986;**21**(Suppl):461-474.
- 91 Martín Medina E. Diagnóstico de salud y valoración de la función pineal en un grupo infantil sometido a una situación de estrés mantenido. Tesis Doctoral. Universidad de Granada, 1990.

- 92 Moreno F, Martín E, Muñoz A, Molina A, Rodríguez T, Palmero G. Assessment of pineal function in the non organic failure to thrive syndrome. *J Endocrinol Invest* 1991;**14**(Suppl 9):200.
- 93 Grad BR, Rozenclwad R. The role of melatonin and serotonin in aging: Update. *Psychoneuroendocrinology* 1993;**18**:283-295.
- 94 Pierpaoli W, Changxian Y. The involvement of the pineal gland and melatonin in immunity and aging. *J Neuroimmunology* 1989;**27**:99-109.
- 95 Maestroni GJM, Conti A, Pierpaoli W. Pineal melatonin, its fundamental immunoregulatory role in aging and cancer. *Ann NY Acad Sci* 1988;**521**:140-148.
- 96 Reiter RJ. The ageing pineal gland and its physiological consequence. *BioEssays* 1992;**14**:169-175.
- 97 Tan DX, Reiter RJ, Chen LD, Poeggeler B, Manchester LC, Barlow Walden LR. Both physiological and pharmacological levels of melatonin reduce DNA adduct formation induced by the carcinogen safrole. *Carcinogenesis* 1994;**15**:215-218.
- 98 Pierpaoli W, Maestroni GJM. Melatonin: a principal neuroimmunoregulatory and anti-stress hormone: its anti-aging effects. *Immunology Lett* 1987;**16**:355-362.
- 99 Poeggeler B, Reiter RJ, Tan DX, Chen LD, Manchester LC. Melatonin, hydroxyl radical mediated oxidative damage, and aging: A hypothesis. *J Pineal Res* 1993;**14**:151-168.
- 100 Abe M, Reiter RJ, Orhii PB, Hara M, Poeggeler B. Inhibitory effect of melatonin on cataract formation in newborn rats: evidence for an antioxidative role for melatonin. *J Pineal Res* 1994;**17**:94-100.
- 101 Maestroni GJM, Conti A, Pierpaoli W. Role of the pineal gland in immunity: II. Melatonin enhances the antibody response via an opiate-ergic mechanism. *Clin Exp Immunol* 1987;**68**:384-391.
- 102 Maestroni GJM. Lymphocytes as peripheral target of melatonin signaling. En: Melatonin: Mechanism of action and therapeutic implications. Curso Internacional. Departamento de Morfología y Biología Celular. Universidad de Oviedo. Diciembre 1994.
- 103 Dubocovich ML. Pharmacology and function of melatonin receptors. *FASEB J* 1988;**2**:2765-2773.
- 104 Morgan PJ, Williams LM. Central melatonin receptors: implications for a mode of action. *Experientia* 1989;**45**:955-965.
- 105 Reppert SM, Weaver DR, Rivkees SA, Stopa EG. Putative melatonin receptor in a human biological clock. *Science* 1988;**242**:78-81.
- 106 Reppert SM, Weaver DR, Ebisawa T. Cloning and characterization of a mammalian melatonin receptor that mediates reproductive and circadian responses. *Neuron* 1994;**13**:1177-1185.
- 107 Acuña Castroviejo D, Escames G, Macías M, Muñoz Hoyos A, Molina Carballo A, Montes R, Vives F. Cell protective role of melatonin in the brain. *J Pineal Res* 1995;**19**(en prensa).
- 108 Benítez-King G, Huerto-Delgado L, Antón-Tay F. Binding of ³H-melatonin to calmodulin. *Life Sci* 1993;**53**:201-207.
- 109 Marangos PJ, Patel J, Hirata F, Sondhein D, Paul SM, Skolnick P, Goodwin FK. Inhibition of diazepam binding by tryptophan derivatives including melatonin and its brain metabolite N-acetyl-5-methoxy kynurenamine. *Life Sci* 1981;**29**:259-267.
- 110 Reiter RJ. Free radicals, melatonin, and cellular antioxidative defense mechanisms. En: Gupta D, Wollmann HA, Fedor-Frebergh PG (eds). Pathophysiology of Immune-Neuroendocrine Communication Circuit. Stuttgart: Mattes Verlag 1994; págs. 135-160.
- 111 Hardeland R, Balzer I, Pöggeler B, Fuhrberg B, Uría H, Behrmann G, Wolf R, Meyer TJ. Melatonin - A phylogenetically old molecule: mediation of photoperiodic signals in a unicell and the primary function of free-radical scavenging. En: Melatonin: Mechanism of action and therapeutic implications. Curso Internacional. Universidad de Oviedo. Diciembre 1994.
- 112 Acuña Castroviejo D, Reiter RJ, Menéndez Peláez A, Pablos MI, Burgos A. Characterization of high-affinity melatonin binding sites in purified cell nuclei of rat liver. *J Pineal Res* 1994;**16**:100-113.
- 113 Menéndez-Peláez A, Reiter RJ. Distribution of melatonin in mammalian tissues. The relative importance of nuclear versus cytosolic receptors. *J Pineal Res* 1993;**15**:59-69.
- 114 Moreno Madrid F. Valoración de un test de función pineal en niños con l-triptófano por vía oral. Tesis Doctoral. Universidad de Granada, 1994.
- 115 Amorós Rodríguez I. Valoración de la función pineal (doble vertiente: metoxi-indoles y kynurenina) tras una sobrecarga con piridoxina. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. Marzo 1994.
- 116 Cavallo A, Richards GE, Meyer WJ, Waldrop RD. Evaluation of 5-hydroxy-tryptophan administration as a test of pineal function in humans. *Horm Res* 1987;**27**:69-73.
- 117 Dollins AB, Zhdanova IV, Wurtman RJ, Lynch HL, Deng MH. Effect of inducing nocturnal serum melatonin concentrations in daytime on sleep, mood, body temperature, and performance. *Proc Natl Acad Sci* 1994;**91**:1824-1828.
- 118 Waldhauser F, Waldhauser M, Liberman HR, Deng M-H, Lurch HJ, Wurtmann RJ. Bioavailability of oral melatonin in humans. *Neuroendocrinology* 1984;**39**:307-313.
- 119 Arend J, Hampton S, English J, Kwasowski P, Marks V. 24-hours profiles of melatonin, cortisol, insulin c-peptide and GIP following a meal and subsequent fasting. *Clin Endocrinol* 1992;**16**:89-95.
- 120 Petterborg LJ, Thalén BE, Kjellman BF, Wetterberg L. Effect of melatonin replacement on serum hormone rhythms in a patient lacking endogenous melatonin. *Brains Res Bull* 1991;**27**:181-185.
- 121 Cagnacci R, Elliott JA, Yen SSC. Melatonin: a major regulator of the circadian rhythm of core temperature in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;**75**:447-452.
- 122 Renkawek K, Renier WO, De Pont JJHMM, Vogels OJM, Grabeëls FJM. Neonatal status convulsivus, spongiform encephalopathy, and low activity of Na⁺/K⁺-ATPase in the brain. *Epilepsia* 1992;**33**:58-64.
- 123 Savic I, Roland P, Sedwall G, Persson A, Pauli S, Widen L. In vivo demonstration of reduced benzodiazepine receptor binding in human epileptic foci. *Lancet* 1988;**2**:863-866.
- 124 Tomoda A, Miike T, Uezono K, Kawasaki T. A school refusal with biological rhythm disturbance and melatonin therapy. *Brain Dev* 1994;**16**:71-76.