

Received: 04.04.2018
Accepted: 29.10.2018
Published: 31.12.2018

Wpływ melatoniny na mechanizmy obrony antyoksydacyjnej w chorobie Alzheimera

The impact of melatonin on antioxidant defense mechanisms in Alzheimer's disease

Daria Malicka^{1*}, Dominika Markowska^{1*}, Jarosław Nuskiewicz²,
Karolina Szewczyk-Golec²

¹Studenckie Koło Naukowe Biologii Medycznej przy Katedrze Biologii i Biochemii Medycznej, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

²Katedra Biologii i Biochemii Medycznej, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

Streszczenie

Z wiekiem obserwuje się wzrastające ryzyko rozwoju chorób neurodegeneracyjnych. Jednym z najczęstszych i najpoważniejszych w skutkach schorzeń jest choroba Alzheimera, związana z utratą funkcji komórek nerwowych. W przebiegu choroby dochodzi do tworzenia zewnątrzkomórkowych blaszek starcznych składających się z beta-amyloidu oraz wewnątrzkomórkowych spletków neurofibrilarnych, utworzonych z hiperfosforylowanego białka tau. Z powodu starzenia się organizmu obniża się potencjał naprawczy uszkodzonych neuronów. Powstające w nadmiarze wolne rodniki tlenowe generują wzmożony stres oksydacyjny, który przyczynia się do uszkodzania biomolekuł i powstania opisanych patologicznych zmian. Mechanizmowi temu sprzyja spadek sprawności enzymów antyoksydacyjnych oraz niedobór antyoksydantów, stwierdzany w starzejącym się organizmie. Z wiekiem następuje również obniżenie wydzielania hormonu szyszynki – melatoniny, funkcjonującej jako biochemiczny zegar biologiczny. Melatonina jest bardzo skutecznym antyoksydantem, który odgrywa zasadniczą rolę w ochronie komórek przed nadmiernym uszkodzaniem, zwłaszcza w układzie nerwowym. Badania wykazały, iż suplementacja egzogenną melatoniną może zapobiegać stymulowanej stresem oksydacyjnym degeneracji neuronów. Uwzględniając działanie melatoniny i patogenezę choroby Alzheimera, istotnym wydaje się możliwość terapeutycznego i prewencyjnego zastosowania tego hormonu w profilaktyce i łagodzeniu skutków choroby.

Słowa kluczowe:

antyoksydanty • choroba Alzheimera • melatonina • reaktywne formy tlenu • stres oksydacyjny

Summary

During aging, the increased risk of neurodegenerative disease development is observed. One of the most common and most serious disorders is Alzheimer's disease manifested by the loss of nerve cell functions. In the course of the disease, extracellular senile plaques consisting of beta-amyloid and intracellular neurofibrillary tangles of hyper-phosphorylated tau protein are formed. As a result of aging, the repair potential of damaged nerve cells is reduced. Free radicals formed in excess generate augmented oxidative stress, which contributes to the damaging of biomolecules and the development of pathological changes. This mechanism is

*Autorzy w równym stopniu uczestniczyli w powstawaniu pracy.

	avored by a decrease in the efficiency of antioxidant enzymes and the deficiency of antioxidants, observed in aging organism. With age, the secretion of the pineal hormone melatonin, functioning as a biochemical biological clock, is significantly reduced. This compound has been proved to be a very effective antioxidant that plays a key role in protecting cells against excessive damage, especially in nervous tissue. Studies have shown that supplementation with exogenous melatonin can prevent oxidative stress-induced degeneration of neurons. Considering the action of melatonin and the pathogenesis of Alzheimer's disease, the idea of using the hormone supplementation in the prevention and alleviation of the effects of the disease seems to be extremely interesting.
Keywords:	antioxidants • Alzheimer's disease • melatonin • reactive oxygen species • oxidative stress
GICID	01.3001.0012.8252
DOI:	10.5604/01.3001.0012.8252
Word count:	4750
Tables:	–
Figures:	2
References:	80

Adres autorki: dr hab. n. med. Karolina Szewczyk-Golec, Katedra Biologii i Biochemii Medycznej, Collegium Medicum w Bydgoszczy UMK w Toruniu, ul. Karłowicza 24, 85-092 Bydgoszcz; e-mail: karosz@cm.umk.pl

Wykaz skrótów: $^1\text{O}_2$ – tlen singletowy, **AchE** – acetylocholinoesteraza, **AD** – choroba Alzheimera, **AFMK** – N^1 -acetylo- N^2 -formylo-5-metoksikynuramina, **APP** – amyloidowe białko prekursorowe, **A β** – β -amyloid, **CAT** – katalaza, **ClO $^-$** – rodnik podchlorynowy, **GPxs** – peroksydazy glutationowe, **GR** – reduktaza glutationowa, **GSH** – glutation, **GSK3 α** , **GSK3 β** – kinazy syntazy glikogenu, **GSTs** – S-transferazy glutationowe, **H $_2$ O $_2$** – nadtlenuk wodoru, **HIOMT** – transferaza hydroksyindolo-O-metylowa, **LOO $^\bullet$** – rodnik peroksydowy, **MAP** – białko związane z mikrotubulami, **MAPK13** – kinaza aktywowana miogenami 13, **MCI** – łagodne zaburzenia poznawcze, **MT** – melatonina, **MT1, MT2** – receptory melatoninowe błonowe, **NAT** – N-acetylotransferaza serotoniny, **NO** – tlenek azotu, **NOO $^-$** – nad-tlenoazotyn, **O $_2^{2-}$** – anion ponadtlenkowy, **OH $^\bullet$** – rodnik hydroksylowy, **RNS** – reaktywne formy azotu, **ROR/RZR** – sieroce receptory jądrowe, **ROS** – reaktywne formy tlenu, **SCN** – jądra nadskrzyżowaniowe podwzgórza, **SODs** – dysmutazy ponadtlenkowe.

CHOROBA ALZHEIMERA JAKO SCHORZENIE NEURODEGENERACYJNE

Choroba Alzheimera (AD, Alzheimer disease) z każdym rokiem staje się coraz większym problemem społecznym i wyzwaniem dla współczesnej medycyny. Ponad 100 lat temu Alois Alzheimer opisał pierwszy kliniczny przypadek pacjentki cierpiącej na utratę pamięci i dezorientację przeradzającą się w całkowitą apatię [10]. Obecnie na świecie około 46 milionów osób zmagających się z tą chorobą [17]. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO, World Health Organization) prognozuje, iż w 2030 r. liczba chorych będzie wynosiła 65 milionów, a w 2050 r. aż 115 milionów [16]. W Polsce z chorobą Alzheimera, która dotyka przede wszystkim ludzi starszych, zmagają się obecnie ponad 300 tysięcy osób [65].

Choroba jest schorzeniem neurodegeneracyjnym, które wiąże się z utratą funkcji poznawczych i zaburzeniami neurobehawioralnymi. Pierwsze objawy zaburzeń funkcji poznawczych pojawiają się już kilka lat przed wystąpieniem pełnoobjawowej postaci choroby. Początek można wiązać z występowaniem łagodnych zaburzeń

poznawczych (MCI, mild cognitive impairment) [13]. W przebiegu AD upośledzeniu podlegają przede wszystkim pamięć, możliwość przyswajania nowej wiedzy, funkcje językowe oraz wzrokowo-przestrzenne [5]. Zaburzenia funkcji poznawczych wywołują poważne problemy w życiu zawodowym i społecznym osoby chorej [27]. W miarę postępowania choroby pacjent staje się bezradny, niesamodzielny i zależny od otoczenia. W późniejszych stadiach choroby nie rozpoznaje najbliższych, swoje emocje sygnalizuje w sposób niezrozumiały dla otoczenia, ma poczucie zagubienia społecznego. W rezultacie objawy te mogą być przyczyną depresji, lęku, nieufności oraz chwiejności emocjonalnej [37]. W końcowym etapie trwania choroby konieczna jest całodobowa opieka i pielęgnacja. Pacjent nie jest w stanie kontrolować czynności fizjologicznych, nie potrafi samodzielnie jeść, traci umiejętność porozumiewania się [29].

W patogenezie AD za główny czynnik sprawczy uważa się złoży beta-amyloidu, które ze współudziałem procesu zapalnego, zaburzonej degradacji białek, a także apoptotycznej i nekrotycznej śmierci neuronów, prowadzą do zaburzeń w działaniu systemu neuroprzekazników [49,

59]. W obrębie mózgowia powstają zewnątrzkomórkowe blaszki starcze składające się z beta-amyloidu oraz wewnątrzkomórkowe splątki neurofibrylarne, utworzone z hiperu fosforylowanego białka tau [59]. Obecność złożeń beta-amyloidu i splątków neurofibrilarnych obniża liczbę neuronów i połączeń synaptycznych. Zmiany są umiejscowione przede wszystkim w obszarach mózgu odpowiedzialnych za pamięć, uczenie się i emocje [41], dlatego do metod diagnostycznych AD należy ocena zmniejszenia objętości struktur przyśrodkowej części płata skroniowego.

Beta-amyloid jest białkiem powstającym z amyloido-owego białka prekursorowego (APP, amyloid precursor protein). APP jest przecinane przez beta- i gamma-sekretazy, w wyniku czego powstają dwie izoformy beta-amyloidu: bardziej toksyczny, nierozpuszczalny i zdolny do tworzenia agregatów peptyd Aβ-42 o dłuższym łańcuchu oraz lepiej rozpuszczalny, krótszy peptyd Aβ-1-40 [11]. W warunkach fizjologicznych peptyd Aβ-1-40 jest zdecydowanie więcej, ponieważ aż 90% amyloidu jest syntetyzowane w komórce, natomiast peptyd Aβ-42 to mniej niż 5% beta-amyloidu. Powstawanie odpowiedniej postaci amyloidu zależy od mutacji genu odpowiedzialnego za kodowanie białka APP, jest to jedna z przyczyn dziedzicznej AD [7]. Nasilenie procesów amyloidogenezy wiąże się również z występowaniem allelu ε4 genu APOE kodującego apolipoproteinę E [21].

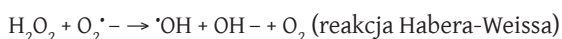
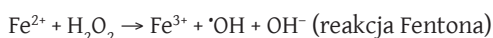
Białko tau należy do rodziny białek związanych z mikrotubulami (MAP, microtubule-associated proteins), tworzących cytoszkielet komórek nerwowych i zapewniających jego stabilność. Znajduje się głównie w neuronach, gdzie odpowiada za strukturę i funkcje aksonu [49]. Funkcje tau podlegają regulacji przez alternatywny splicing i fosforylację. Najbardziej aktywnymi kinazami fosforylującymi białko tau są kinaza syntazy glikogenu 3 alfa (GSK3α, glycogen synthase), kinaza syntazy glikogenu 3 beta (GSK3β, glycogen synthase kinase β) i białkowa kinaza aktywowana mitogenami 13 (MAPK13, mitogen-activated protein kinase 13) [8]. W mózgu osoby z AD hiperfosforylacja tau w neuronach powoduje agregację włókienek białka, a to uszkadza mikrotubule i prowadzi do apoptozy [7]. Jednym ze skutków tworzenia tych struktur jest zaburzona homeostaza wapniowa oraz powstawanie zbyt dużej liczby wolnych rodników tlenowych, które działają destrukcyjnie na komórki nerwowe [76].

Należy podkreślić, że AH jest schorzeniem o złożonej patogenezie, a nie wszystkie badania wskazują na konieczny udział złożeń beta-amyloidowych i białka tau w rozwoju deficytów poznawczych [59].

STRES OKSYDACYJNY A CHOROBA ALZHEIMERA

Stres oksydacyjny powstaje z powodu podwyższonego poziomu reaktywnych form tlenu (ROS, reactive oxygen species), który jest wynikiem zaburzonych relacji między generowaniem ROS, a ich neutralizowaniem przez anty-

oksydanty [61]. Wolne rodniki tlenowe są molekułami, które powstają z niepełnej redukcji cząsteczki tlenu, zawierają więc co najmniej jeden niesparowany elektron. Są to formy wysoce reaktywne, gdyż dążą do osiągnięcia pary elektronowej, przez oderwanie elektronu bądź oddanie go innym cząsteczkom [28]. Wolne rodniki pełnią w organizmie ważne funkcje fizjologiczne. Biorą udział m.in. w reakcjach utleniania i redukcji, w procesie oddychania, w regulacji hormonalnej, mechanizmie skurczu mięśni, są niezbędne w procesach bakterio-bójczych i bakteriostatycznych, regulują funkcjonowanie układu odpornościowego i napięcie naczyniowe [12]. Dopiero nadmierne wytwarzanie ROS sprawia, że mają destrukcyjny charakter [12]. Powstają w wyniku toczących się w organizmie procesów, takich jak oddychanie tlenowe czy procesy zapalne. Źródłem ROS są również czynniki egzogenne, m.in. składniki dymu tytoniowego, promieniowanie jonizujące, zanieczyszczenia, metale i niektóre leki [47]. Nadmiar ROS wpływa destabilizująco na istotne biologicznie cząsteczki, czyli białka, lipidy, węglowodany czy kwasy nukleinowe, prowadząc do ich poważnych uszkodzeń i zaburzając ich funkcje [34]. Oddziaływanie ROS, szczególnie z mitochondrialnym DNA, jest rozważane w patogenezie wielu chorób i zmian starczych [77]. Reakcje rodnikowe są reakcjami łańcuchowymi. Do najważniejszych ROS należy zaliczyć anionorodnik ponadtlenkowy ($O_2^{\cdot-}$), nadtlenek wodoru (H_2O_2), rodnik hydroksylowy ($OH^{\cdot}$) oraz tlen singletowy (1O_2) [73]. Najbardziej niebezpieczny, ze względu na dużą reaktywność, rodnik hydroksylowy powstaje z rozkładu nadtlenu wodoru w reakcji Fentona przy obecności metali z grup przejściowych (Cu, Fe) [26]. Nadtlenek wodoru i anionorodnik ponadtlenkowy mają długi okres półtrwania, jednak są mało reaktywne. Biorąc udział w reakcji Habera-Weissa uczestniczą w generacji rodnika hydroksylowego [57]:



Występowanie nawet niewielkich stężeń metali Fe i Cu jest wystarczające do zainicjowania wytwarzania $\cdot OH$ [58]. Powstały rodnik hydroksylowy może być zarówno reduktorem, jak i utleniaczem. Ze względu na dużą reaktywność jest zdolny do atakowania wszystkich cząsteczek, z którymi ma styczność [23].

Mózg jest organem charakteryzującym się bardzo sprawnym metabolizmem tlenowym. Zużywa prawie 20% tlenu pobieranego przez organizm. Zatem neurony są szczególnie narażone na zaburzenia oksydacyjne z powodu intensywnego metabolizmu tlenowego, a także w związku z dużą zawartością nienasyconych kwasów tłuszczowych oraz względnie niskim poziomem antyoksydantów [42].

Zmiany chorobowe w mózgach pacjentów z chorobą Alzheimera jednoznacznie wskazują na modyfikacje związane z wpływem wolnych rodników na struktury

komórkowe oraz obecnością jonów metali, które umożliwiają powstawanie ROS [9]. Rodnik hydroksylowy hamuje w mózgu aktywność oksydaz monoaminowych, które odpowiadają za katabolizm neuroprzekaźników. Przyczynia się również do utraty neuronów w sytuacjach niedokrwienia mózgu w AD [23]. Choroba Alzheimera dotyka przede wszystkim ludzi w wieku podeszłym, stąd też w myśl wolnorodnikowej teorii starzenia wolne rodniki tlenowe odgrywają dużą rolę w występowaniu zmian degeneracyjnych w mózgu pacjenta [6]. Nadmierne wytwarzanie β -amyloidu charakterystyczne dla AD jest następnym czynnikiem, w którym upatruje się źródła nadmiernej generacji ROS [48].

Organizm wykształcił swoiste mechanizmy obrony zapobiegające uszkodzeniom spowodowanym przez ROS. Do substancji chroniących przed skutkami nadmiernej ekspozycji na wolne rodniki należą białka enzymatyczne o aktywności antyoksydacyjnej i antyoksydanty nieenzymatyczne. Pierwsza linia obrony obejmuje następujące enzymy antyoksydacyjne: dysmutazy ponadtlennkowe (SODs), katalazę (CAT), peroksydazy glutationowe (GPxs), reduktazę glutationową (GR) i S-transferazy glutationowe (GSTs) [20]. W skład antyoksydantów nieenzymatycznych wchodzi przeciwtleniacze pochodzące z diety oraz endogenne związki powstałe podczas metabolizmu. Są to m.in. glutation (GSH), koenzym Q10, kwas moczowy, bilirubina, transferyna, L-arginina, a także melatonina, hormon wytwarzany w szyszynce [46]. Melatonina jest syntetyzowana przez większość organizmów, czym wyróżnia się wśród innych przeciwutle-

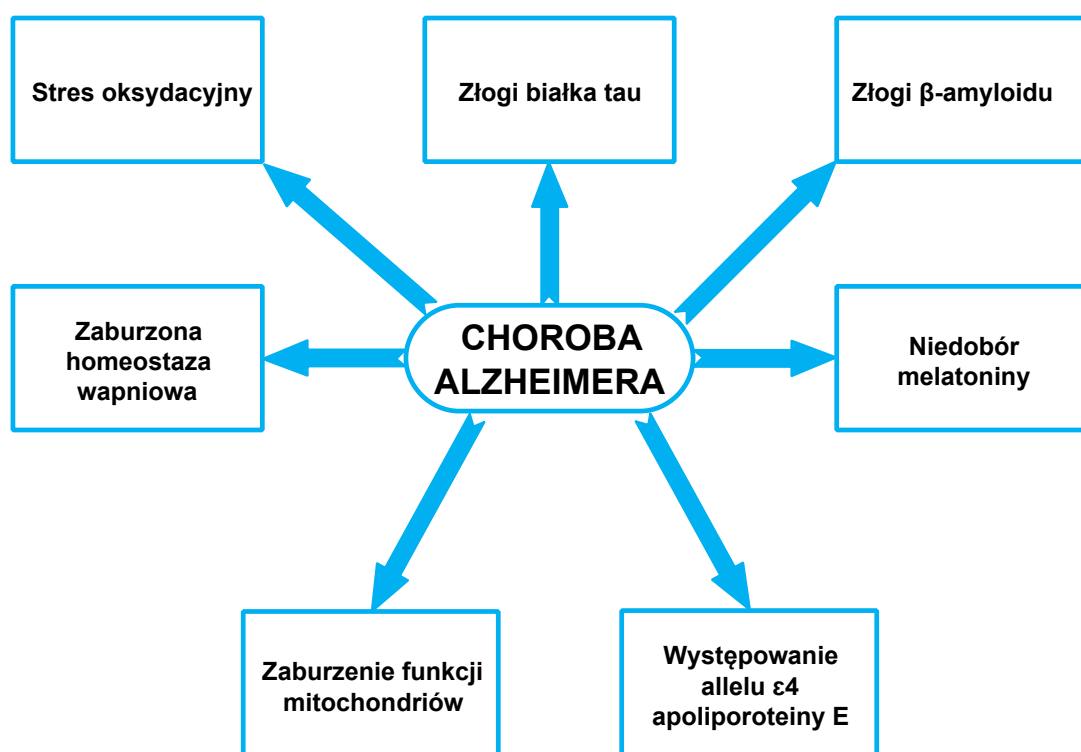
niaczy, ponieważ jej niedobór może wynikać z innych przyczyn niż niedobory w diecie. Na obniżony poziom tego antyoksydanta mają wpływ inne czynniki, w tym starzenie się organizmu [66]. Należy jednak zaznaczyć, że szyszynka do wydzielania wystarczającej ilości melatoniny potrzebuje tryptofanu pochodzącego z diety [80].

Proponowane przyczyny choroby Alzheimera przedstawiono na ryc. 1.

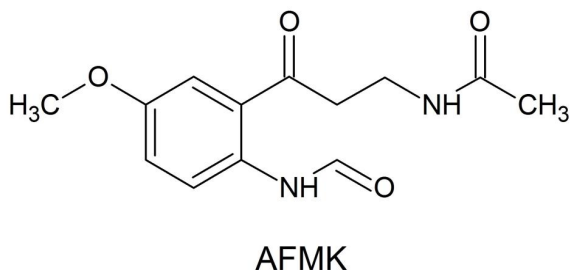
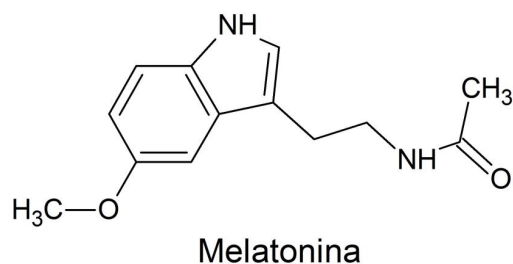
PLEJOTROPOWE DZIAŁANIE MELATONINY

Melatonina (MT, *N*-acetylo-5-metoksytryptamina) jest hormonem wytwarzanym przez pinealocyty (komórki szyszynki), który odkryto i opisano prawie 60 lat temu [30]. Wytwarzanie MT nie ogranicza się tylko do tego narządu, odbywa się również w siatkówce, szpiku kostnym, przewodzie pokarmowym, skórze oraz płytkach krwi i limfocytach [43].

W szlaku syntezy MT widoczna jest rytmiczność zależna od cyklu światło-ciemność [1]. Największe stężenie melatoniny osiągane jest w ciemności [31]. Zaobserwowano zmniejszone nocne wytwarzanie hormonu po ekspozycji na promieniowanie świetlne z zakresu 446-477 nm [72]. Ważną częścią biosyntezy melatoniny jest udział drogi nerwowej, ponieważ za jej pośrednictwem do szyszynki dociera informacja o aktualnym oświetleniu. Impulsy są przekazywane głównie do jąder nadskrzyżowaniowych podwzgórza (SCN, suprachiasmatic nuclei), zegara biologicznego organizmu człowieka oraz



Ryc. 1. Proponowane przyczyny rozwoju choroby Alzheimera



Ryc. 2. Wzory strukturalne melatoniny oraz jej pochodnej – AFMK (*N*¹-acetylo-*N*²-formylo-5-metoksykynuramina)

do zwoju górnego szyjnego, którego włókna unerwiają komórki szyszynki. Funkcją tych zazwojowych włókien współczulnych jest uwolnienie noradrenaliny. Punktem docelowym działania tego neuroprzekaźnika są błonowe receptory β 1-adrenergiczne w pinealocytach. Po uruchomieniu mechanizmu receptorowego dochodzi do sekrecji MT [62, 78]. Do jej powstania wykorzystywany jest tryptofan, który ulega przemianom zachodzącym z udziałem hydroksylazy tryptofanu, dekarboksylazy 5-hydroksytryptofanu, *N*-acetyltransferazy serotoniny (NAT) i transferazy hydroksyindolo-O-metylowej (HIOMT). Działanie tych enzymów powoduje utworzenie odpowiednio 5-hydroksytryptofanu, serotoniny, *N*-acetyloserotoniny i ostatecznie – melatoniny.

Przez wiele lat prowadzono badania mające na celu poznanie mechanizmów funkcjonowania MT. Za sprawą dobowego rytmu wydzielania, MT pełni rolę biochemicznego koordynatora snu i czuwania oraz sprawuje kontrolę nad cyklami okołodobowymi i sezonowymi [60]. Jest hormonem działającym endokrynnie, parakrynnie i autokrynnie [24]. Jej działanie jest związane z modulowaniem funkcjonowania układu odpornościowego przez dobowe i sezonowe zmiany ilościowe i jakościowe komórek obrony immunologicznej oraz wydzielanych przez nie cytokin [39, 70]. Ponadto MT wykazuje wiele innych funkcji, m.in. wpływa ochronnie na układ pokarmowy oraz reguluje ciśnienie krwi [36]. Wiele możliwości tej cząsteczki jest spełnionych przez działanie za pośrednictwem receptorów. Jako cząsteczka o właściwościach zarówno hydro-, jak i lipofilnych, MT może działać zarówno przez receptory błonowe, jak i wewnątrzkomórkowe. Receptory melatoninowe błonowe MT1 i MT2 należą do nadrodziny białek transbłonowych G [15]. Poznano również receptor związany z melatoniną MRR, który wykazuje 45% homologii z MT1 i MT2 [63]. Inny model działania obejmuje sieroce receptory jądrowe (ROR/RZR, retinoid orphan receptors/retinoid Z receptors), które mają największe znaczenie w układzie odpornościowym [54]. Oprócz mechanizmów receptorowych melatonina może się wiązać do wewnątrzkomórkowych białek regulatorowych, jak kalmodulina, co ma znaczący wpływ na regulację kinaz zależnych od Ca^{2+} oraz innych enzymów [53].

Udział melatoniny w systemie obrony antyoksydacyjnej

Melatonina spełnia istotne funkcje antyoksydacyjne przez bezpośrednią neutralizację ROS i reaktywnych form azotu (RNS, reactive nitrogen species). Jest zdolna do wychwytu rodnika hydroksylowego, H_2O_2 , $\text{O}_2^{\cdot-}$, tlenu singletowego, tlenku azotu (NO), nadtlenoazotynu ($\text{NOO}^{\cdot}$), rodnika podchlorynowego ($\text{ClO}^{\cdot}$) oraz peroksydowego ($\text{LOO}^{\cdot}$) [66]. Jedna cząsteczka melatoniny może dezaktywować 10 cząsteczek ROS [67]. Mechanizm mający największe znaczenie w obronie wolnorodnikowej to transfer elektronów i wodoru [19]. Na działanie antyoksydacyjne składają się również metabolity melatoniny, m.in. 3-hydroksymelatonina i *N*¹-acetylo-*N*²-formylo-5-metoksykynuramina (AFMK), które reagując z produktami powstającymi podczas oddziaływania melatoniny z ROS i RNS wzmagają to działanie [68]. Wzory strukturalne melatoniny oraz AFMK przedstawiono na ryc. 2.

Bezpośrednia rola melatoniny w systemie obrony antyoksydacyjnej organizmu polega na eliminowaniu ROS i RNS ze środowiska komórkowego i metabolizowaniu ich do postaci nieaktywnych, co jest szczególnie ważne w utrzymaniu prawidłowych funkcji mitochondriów. Hormon ten wykazuje również pośrednie działanie antyoksydacyjne, wpływając stymulująco na syntezę enzymów antyoksydacyjnych przez zwiększenie syntezy ich mRNA, a hamując na syntezę enzymów prooksydacyjnych [38, 52, 79]. Można więc podsumować, że melatonina jest substancją chroniącą lipidy, białka i kwasy nukleinowe przed uszkadzającymi reakcjami utlenienia. Jak wynika z przeprowadzonych badań, działając jednocześnie z innymi antyoksydantami, szczególnie z GSH oraz witaminami C i E, MT hamuje peroksydację lipidów zapoczątkowaną przez H_2O_2 i FeSO_4 [22]. Należy podkreślić, że MT jest skuteczniejsza od innych nieenzymatycznych antyoksydantów, ponieważ jest cząsteczką rozpuszczalną zarówno w wodzie jak i w tłuszczach, dlatego też może przenikać przez barierę krew-mózg, co ma szczególne znaczenie dla ochrony centralnego układu nerwowego przed ROS [50].

Melatonina w chorobie Alzheimera

Na patogenezę chorób neurodegeneracyjnych składa się wiele czynników. Szkodliwe zmiany w neuronach są wywołane stanem zapalnym, tworzeniem ROS i RNS, dysfunkcją mitochondriów, ekscytotoksycznością, agregacją białek i apoptozą [35]. W toku przeprowadzonych doświadczeń wykazano, że melatonina działa neuroprotekcynie w przypadku każdego z wyżej wymienionych czynników [25]. Zaburzone wydzielanie MT to proces związany nie tylko z wiekiem, ale także z nasileniem procesu neurodegeneracyjnego, który wpływa na system okołodobowo-szyszynkowy [75]. W przebiegu choroby Alzheimera obserwuje się zmniejszoną aktywność jądra nadskrzyżowaniowego podwzgórza, które ma zmiany dystroficzne [74]. Rezultatem jest obniżony poziom melatoniny, nawet o 20% w porównaniu do osób zdrowych [33]. Utracona zostaje rytmika okołodobowa sekrecji tego hormonu, zatem występują zaburzenia snu już na etapie przedklinicznym choroby. Istnieje możliwość zastosowania tej zależności jako wczesnego wskaźnika rozwoju AD. Badania wskazują, że suplementacja melatoniną wpływa na lepsze rokowanie u pacjentów z AD [3, 74]. Zmiany mające wpływ na regulację wydzielania melatoniny w AD nie są związane jedynie z ośrodkami kontrolującymi jej sekrecję, ale wiążą się także z obrotem serotoniny, prekursorem melatoniny, a także zmianami w siatkówce i drogach nerwowych, uczestniczących w tej regulacji [2]. Melatonina zapobiega agregacji i obniża toksyczność A β . Czyni go bardziej podatnym na degradację proteolityczną [45]. Zmniejsza naturalne poziomy wydzielania rozpuszczalnego APP w różnych liniach komórkowych przez zakłócanie jego dojrzewania, czym obniża tworzenie struktur β -harmonijek i włókienek amyloidu [44, 51]. Przyczynia się również do osłabienia hiperfosforylacji białka tau przez aktywację kinaz białkowych lub hamowanie fosfataz białkowych [71]. Stwierdzenia te mają odzwierciedlenie we wnioskach z doświadczenia na transgenicznym mysz z AD [40]. W badaniu tym 44 myszom podawano melatoninę w roztworze wodnym o stężeniu 0,5 mg/ml, tyle samo zwierząt stanowiło grupę kontrolną. Leczenie zaczęto od 4 miesiąca życia do 8, 9,5, 11 lub 15,5 miesiąca, w zależności od czasu przeżycia. Po otrzymaniu wyników badań tkanki mózgowej zwierząt wykazano, że suplementacja melatoniną zmniejszała wytwarzanie A β i ilość nitrowanych białek, a powodowała wzrost przeżywalności [40]. Eksperyment na izolowanie mitochondriów z mózgu badanych myszy dowiódł, że spadek poziomów A β był 2-4-krotnie niższy w grupie przyjmującej MT [14]. Ponadto udowodniono, że wczesna i długotrwała suplementacja melatoniną działa przeciwyamyloidowo i antyoksydacyjnie, a nie występuje natomiast, gdy leczenie rozpocznie się już po etapie tworzenia amyloidu [32]. Potwierdziły to badania 4-miesięcznych myszy, którym podawano melatoninę przez 4 miesiące w dawce 10 mg/kg masy ciała [18]. Celem badania był długoterminowy wpływ melatoniny na organizm, w którym nie odłożyły się jeszcze blaszki starcze. Wyniki doświadczenia wykazały, że melatonina zwiększyła stężenia GSH i SOD

w mózgu myszy oraz zmniejszyła ekspresję czynników związanych z apoptozą. Wyniki te potwierdzają hipotezę, iż terapia antyoksydacyjna jest skuteczna na wczesnym etapie procesu chorobowego [18].

W rozwoju uszkodzeń prowadzących do AD istotną rolę pełnią również procesy neurozapalne, stąd szczególnie istotny może być regulacyjny wpływ melatoniny na funkcjonowanie układu odpornościowego i wydzielanie mediatorów prozapalnych [59]. W przebiegu stanu zapalnego w mózgu dochodzi do wytwarzania prostaglandyn, które mogą m.in. stymulować nadmierną syntezę APP. W procesie tym ochronną rolę może pełnić melatonina, która przez receptory błonowe blokuje działanie prostaglandyn [59].

Degeneracja neuronów wiążąca się z utratą neurotransmisji cholinergicznej pogarsza funkcje poznawcze, co jest charakterystyczne dla choroby Alzheimera [4]. Stwierdzono, że melatonina wpływa na znaczne obniżenie aktywności acetylocholinesterazy (AChE), enzymu rozkładającego acetylcholinę [55]. Badania na transgenicznym mysz z AD wykazały, iż połączenie melatoniny z inhibitorem AChE – takryną działa neuroprotekcynie [79, 80]. Hybryda takryna-melatonina była wstrzykiwana bezpośrednio do mózgu myszy przez 6 tygodni. Skutki terapii dowiodły, iż hybryda takryna-melatonina w znacznym stopniu redukuje złogi A β w mózgu oraz niedobory behawioralne [64]. Inhibitory AChE są naturalnym sposobem leczenia łagodnej i umiarkowanej postaci AD, chociaż obecnie skuteczność takiego rozwiązania jest wciąż dyskusyjna i wymaga dalszych badań [56].

W badaniach prowadzonych u ludzi, wykazano korzystny wpływ suplementacji melatoniną na procesy poznawcze u pacjentów z MCI, a także u pacjentów z AD w stadium łagodnym i umiarkowanym, natomiast nie stwierdzono korzystnego działania melatoniny na procesy poznawcze w ciężkich zaburzeniach w zaawansowanej demencji [69]. Należy zwrócić również uwagę na zaobserwowany w badaniach klinicznych wpływ terapii melatoniną na poprawę jakości snu u pacjentów z AD, szczególnie na wydłużenie całkowitego czasu snu w nocy, gdyż zaburzenia snu w przebiegu AD są korelowane z większym ryzykiem akumulacji A β i rozwojem choroby [69]. Dlatego też rozważane jest stosowanie preparatów o profilu działania melatoniny jako suplementów diety wspomagających właściwą terapię choroby Alzheimera.

PODSUMOWANIE

Rozwój medycyny wydłuża przeciętną długość życia człowieka, co wiąże się z występowaniem coraz to większej liczby chorób, charakterystycznych dla wieku starczego. Przykładem jest choroba Alzheimera, której zwalczanie jest wciąż wyzwaniem dla współczesnej medycyny. Poszukiwane są więc coraz nowsze i skuteczniejsze sposoby, mające na celu łagodzenie obja-

wów oraz zapobieganie występowaniu choroby. Dużą rolę w degeneracji neuronów odgrywają wolne rodniki, których „zmiataczem” są antyoksydanty, w tym melatonina. Naturalnym sposobem było połączenie tych dwóch aspektów i zastosowanie melatoniny jako środka terapeutycznego. Hormon ten może być również czynnikiem prognostycznym, gdyż wraz z rozwojem AD spada jego poziom w organizmie. Badania przeprowadzone głównie na modelach zwierzęcych wykazały, iż melatonina obniża agregację A β , osłabia hiperfosforylację białka tau i działa jako antyoksydant, niwelując uszkodzenia

wolnorodnikowe. Niezmiernie ważne jest również działanie przeciwzapalne tego hormonu. Niezbędne są dalsze badania nad współzależnością między działaniem melatoniny, a postępem choroby. Szczególnie istotne będą badania kliniczne dotyczące suplementacji melatoniną, przeprowadzone w odpowiednio dużych grupach pacjentów z AD i z zastosowaniem różnych dawek MT. Dzięki takim badaniom możliwe będzie opracowanie odpowiednich terapii, które ułatwią funkcjonowanie chorym z tym schorzeniem.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Arendt J.: Melatonin and the pineal gland: influence on mammalian seasonal and circadian physiology. *Rev. Reprod.*, 1998; 3: 13-22
- [2] Bidzan L., Grabowski J., Dutczak B., Bidzan M.: Sleep disorders in the preclinical period of the Alzheimer's disease. *Psychiatr. Pol.*, 2011; 45: 851-860
- [3] Bidzan L., Grabowski J., Dutczak B., Bidzan M.: Sleep disturbances as predictors of progression in Alzheimer disease. *Psychogeriatr. Pol.*, 2012; 9: 1-10
- [4] Bidzan M., Bidzan L.: Objawy neurobehawioralne we wczesnych postaciach otępień typu Alzheimer'a i naczyniopochodnych. *Psychiatr. Pol.*, 2014; 48: 319-330
- [5] Bilikiewicz A., Matkowska-Białko D.: Zaburzenia funkcji poznawczych a depresja. Udar Mózgu. *Problemy Interdyscyplinarne*, 2004; 6: 27-37
- [6] Birkner E., Zaleska-Fiolka J., Antoszewski Z.: Aktywność enzymów antyoksydacyjnych i rola witamin o charakterze antyoksydacyjnym w chorobie Alzheimer'a. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2004; 58: 264-269
- [7] Bugaj A.M., Jermakow N.: Mechanisms underlying Alzheimer's disease. *Neuropsychiatry i Neuropsychologia*, 2016; 3: 85-92
- [8] Cavallini A., Brewerton S., Bell A., Sargent S., Glover S., Hardy C., Moore r., Calley J., Ramachandran D., Poidinger M., Karran E., Davies P., Hutton M., Szekeres P., Bose S.: An unbiased approach to identifying tau kinases that phosphorylate tau at sites associated with Alzheimer disease. *J. Biol. Chem.*, 2013; 288: 23331-23347
- [9] Christen Y.: Oxidative stress and Alzheimer disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2000; 71: 621S-629S
- [10] Cipriani G., Dolciotti C., Picchi L., Bonuccelli U.: Alzheimer and his disease: a brief history. *Neurol. Sci.*, 2011; 32: 275-279
- [11] Coppus A.M., Schuur M., Vergeer J., Janssens A.C., Oostra B.A., Verbeek M.M., van Duijn C.M.: Plasma beta amyloid and the risk of Alzheimer's disease in Down syndrome. *Neurobiol. Aging*, 2012; 33: 1988-1994
- [12] Czajka A.: Wolne rodniki tlenowe a mechanizmy obronne organizmu. *Now. Lek.*, 2006; 75: 582-586
- [13] Daniluk J., Borkowska A.: Zaburzenia funkcji poznawczych i depresja w chorobie Alzheimer'a, zagadnienia neurobiologiczne. *Psychiatria*, 2008; 5: 43-50
- [14] Dragicevic N., Copes N., O'Neal-Moffitt G., Jin J., Buzzeo r., Mamcarz M., Tan J., Cao C., Olcese J.M., Arendash G.W., Bradshaw P.C.: Melatonin treatment restores mitochondrial function in Alzheimer's mice: a mitochondrial protective role of melatonin membrane receptor signaling. *J. Pineal Res.*, 2011; 51: 75-86
- [15] Dubocovich M.L., Rivera-Bermudez M.A., Gerdin M.J., Masana M.I.: Molecular pharmacology, regulation and function of mammalian melatonin receptors. *Front. Biosci.*, 2003; 8: 1093-1108
- [16] Duthey B.: Background paper 6.11: Alzheimer disease and other dementias. *A Public Health Approach to Innovation*, 2013; 6: 1-74
- [17] Espargaro A., Medina A., Di Pietro O., Munoz-Torrero D., Sabate r.: Ultra rapid in vivo screening for anti-Alzheimer anti-amyloid drugs. *Sci. Rep.*, 2016; 6: 23349
- [18] Feng Z., Qin C., Chang Y., Zhang J.T.: Early melatonin supplementation alleviates oxidative stress in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Free Radic. Biol. Med.*, 2006; 40: 101-109
- [19] Galano A., Tan D.X., Reiter r.J.: Melatonin as a natural ally against oxidative stress: a physicochemical examination. *J. Pineal Res.*, 2011; 51: 1-16
- [20] Gałęcka E., Jacewicz r., Mrowicka M., Florkowski A., Gałęcki P.: Enzymy antyoksydacyjne – budowa, właściwości, funkcje. *Pol. Merkur. Lekarski*, 2008; 25: 266-268
- [21] Genin E., Hannequin D., Wallon D., Sleegers K., Hiltunen M., Combarros O., Bullido M.J., Engelborghs S., De Deyn P., Berr C., Pasquier F., Dubois B., Tognoni G., Fievet N., Brouwers N. i wsp.: APOE and Alzheimer disease: a major gene with semi-dominant inheritance. *Mol. Psychiatry*, 2011; 16: 903-907
- [22] Gryszczyńska B., Iskra M.: Współdziałanie antyoksydantów egzogennych i endogennych w organizmie człowieka. *Now. Lek.*, 2008; 77: 50-55
- [23] Gutowicz M.: Wpływ reaktywnych form tlenu na ośrodkowy układ nerwowy. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2011; 65: 104-113
- [24] Hardeland r.: Melatonin – more than just a pineal hormone. *Biomed. J. Sci. Tech. Res.*, 2017; 1: 1-4
- [25] Jenwitheesuk A., Nopparat C., Mukda S., Wongchitrat P., Govitrapong P.: Melatonin regulates aging and neurodegeneration through energy metabolism, epigenetics, autophagy and circadian rhythm pathways. *Int. J. Mol. Sci.*, 2014; 15: 16848-16884
- [26] Kalisz O., Wolski T., Gerkowicz M., Smorawski M.: Reaktywne formy tlenu (RTF) oraz ich rola w patogenezie niektórych chorób. *Ann. Univ. Mariae Curie Skłodowska Med.*, 2007; 62: 87-99
- [27] Kamanová I.: Komunikacja z pacjentem chorym na Alzheimer'a. *Studia Socialia Cracoviensia*, 2016; 8: 153-167
- [28] Karpińska A., Gromadzka G.: Stres oksydacyjny i naturalne mechanizmy antyoksydacyjne – Znaczenie w procesie neurodegeneracji. Od mechanizmów molekularnych do strategii terapeutycznych. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2013; 67: 43-53
- [29] Lech A.: Choroba Alzheimer'a jako czynnik modyfikujący funkcjonowanie rodzin. *Pogranicze. Studia Społeczne*, 2014; 24: 211-242
- [30] Lerner A.B., Case J.D., Takahashi Y., Lee T.H., Mori W.: Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. *J. Am. Chem. Soc.*, 1958; 80: 2587-2587
- [31] Lewy A.J.: Melatonin and human chronobiology. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 2007; 72: 623-636

- [32] Lin L., Huang Q.X., Yang S.S., Chu J., Wang J.Z., Tian Q.: Melatonin in Alzheimer's disease. *Int. J. Mol. Sci.*, 2013; 14: 14575-14593
- [33] Liu r.Y., Zhou J.N., van Heerikhuizen J., Hofman M.A., Swaab D.F.: Decreased melatonin levels in postmortem cerebrospinal fluid in relation to aging, Alzheimer's disease, and apolipoprotein E-epsilon4/4 genotype. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1999; 84: 323-327
- [34] Lobo V., Patil A., Phatak A., Chandra N.: Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn. Rev.*, 2010; 4: 118-126
- [35] Mack J.M., Schamne M.G., Sampaio T.B., Pertile r.A., Fernandes P.A., Markus r.P., Prediger r.D.: Melatonergic system in Parkinson's disease: From neuroprotection to the management of motor and nonmotor symptoms. *Oxid. Med. Cell Longev.*, 2016; 2016: 1-32
- [36] Majewski P.: Melatonina, wielofunkcyjna cząsteczka sygnałowa w organizmie ssaka: miejsca biosyntezy, funkcje, mechanizmy działania. *Folia Medica Lodziensia*, 2010; 37: 15-55
- [37] Makara-Studzińska M., Gustaw K., Kryś K.: Trudności w komunikacji z pacjentem z chorobą Alzheimera. *Psychiatr. Psychol. Klin.*, 2012; 1: 18-25
- [38] Manchester L.C., Coto-Montes A., Boga J.A., Andersen L.P., Zhou Z., Galano A., Vriend J., Tan D.X., Reiter r.J.: Melatonin: an ancient molecule that makes oxygen metabolically tolerable. *J. Pineal Res.*, 2015; 59: 403-419
- [39] Mańka S., Majewska E.: Immunoregulacyjne działanie melatoniny. Mechanizm działania i wpływ na komórki procesu zapalnego. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2016; 70: 1059-1067
- [40] Matsubara E., Bryant-Thomas T., Pacheco Quinto J., Henry T.L., Poeggeler B., Herbert D., Cruz-Sanchez F., Chyan Y.J., Smith M.A., Perry G., Shoji M., Abe K., Leone A., Grundke-Ikbal I., Wilson G.L. i wsp.: Melatonin increases survival and inhibits oxidative and amyloid pathology in a transgenic model of Alzheimer's disease. *J. Neurochem.*, 2003; 85: 1101-1108
- [41] Mattson M.P.: Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nature*, 2004; 430: 631-639
- [42] Michalak A., Krzeszowiak J., Markiewicz-Górka I.: Starzenie się organizmu a stres oksydacyjny oraz zmniejszona sprawność systemów naprawczych. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2014; 68: 1483-1491
- [43] Pandi-Perumal S.R., Srinivasan V., Maestroni G.J., Cardinali D.P., Poeggeler B., Hardeland r.: Melatonin: Nature's most versatile biological signal? *FEBS J.*, 2006; 273: 2813-2838
- [44] Pappolla M., Bozner P., Soto C., Shao H., Robakis N.K., Zagorski M., Frangione B., Ghiso J.: Inhibition of Alzheimer beta-fibrillogenesis by melatonin. *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 7185-7188
- [45] Perez A., Li T.: The rationale of using coffee and melatonin as an alternative treatment for Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis. Parkinsonism*, 2016; 6: 1-5
- [46] Pham-Huy L.A., He H., Pham-Huy C.: Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int. J. Biomed. Sci.*, 2008; 4: 89
- [47] Phaniendra A., Jestadi D.B., Periyasamy L.: Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J. Clin. Biochem.*, 2015; 30: 11-26
- [48] Pietras T.: Toksyczność amyloidu beta a stres oksydacyjny w patogenezie choroby Alzheimera. *Adv. Psychiatry. Neurol.*, 2007; 16: 69-73
- [49] Pokryszko-Dragan A., Zagrajek M.M., Słotwiński K.: Taupatie – choroby zwyrodnieniowe ośrodkowego układu nerwowego związane z patologią białka tau. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2005; 59: 386-391
- [50] Popławski P.T., Derlacz r.A.: Jak działa melatonina. *Postępy Biochem.*, 2003; 49: 9-17
- [51] Puzanowska-Tarasiewicz H., Kuźmicka L., Tarasiewicz M.: Antyoksydanty a reaktywne formy tlenu. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2010; 43: 9-14
- [52] Reiter r.J.: Melatonin: Lowering the high price of free radicals. *News Physiol. Sci.*, 2000; 15: 246-250
- [53] Reiter r.J., Tan D.X., Fuentes-Broto L.: Melatonin: a multitasking molecule. *Prog. Brain Res.*, 2010; 181: 127-151
- [54] Reiter r.J., Tan D.X., Galano A.: Melatonin: exceeding expectations. *Physiology*, 2014; 29: 325-333
- [55] Rodriguez-Franco M.I., Fernandez-Bachiller M.I., Perez C., Hernandez-Ledesma B., Bartolome B.: Novel tacrine-melatonin hybrids as dual-acting drugs for Alzheimer disease, with improved acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant properties. *J. Med. Chem.*, 2006; 49: 459-462
- [56] Rosales-Corral S.A., Acuna-Castroviejo D., Coto-Montes A., Boga J.A., Manchester L.C., Fuentes-Broto L., Korkmaz A., Ma S., Tan D.X., Reiter r.J.: Alzheimer's disease: pathological mechanisms and the beneficial role of melatonin. *J. Pineal Res.*, 2012; 52: 167-202
- [57] Rutkowski r., Pancewicz S.A., Rutkowski K., Rutkowska J.: Znaczenie reaktywnych form tlenu i azotu w patomechanizmie procesu zapalnego. *Pol. Merk. Lekarski*, 2007; 23: 131-136
- [58] Sarniak A., Lipińska J., Tytman K., Lipińska S.: Endogenne mechanizmy powstawania reaktywnych form tlenu (ROS). *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2016; 70: 1150-1164
- [59] Sienkiewicz-Jarosz H., Kostowski W.: Perspektywy terapii choroby Alzheimera. *Psychiatr. Pol.*, 2000; 34: 623-640
- [60] Simonneaux V., Ribelayga C.: Generation of the melatonin endocrine message in mammals: a review of the complex regulation of melatonin synthesis by norepinephrine, peptides, and other pineal transmitters. *Pharmacol. Rev.*, 2003; 55: 325-395
- [61] Skiba M., Pedrycz A., Cichacz B.: Reactive oxygen radicals – the therapeutic effectiveness of antioxidants. *Polish Hyperbaric Res.*, 2016; 54: 41-48
- [62] Skwarło-Sońta K.: Melatonina: hormon snu czy hormon ciemności? *Kosmos*, 2014; 2: 223-231
- [63] Slominski r.M., Reiter r.J., Schlabritz-Loutsevitch N., Ostrom r.S., Slominski A.T.: Melatonin membrane receptors in peripheral tissues: distribution and functions. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2012; 351: 152-166
- [64] Spuch C., Antequera D., Isabel Fernandez-Bachiller M., Isabel Rodriguez-Franco M., Carro E.: A new tacrine-melatonin hybrid reduces amyloid burden and behavioral deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurotox. Res.*, 2010; 17: 421-431
- [65] Szczudlik A.: Sytuacja osób chorych na chorobę Alzheimera w Polsce. *Biuro Rzecznika Praw Obywatelskich*, 2016; wyd. 2: 1-80
- [66] Tan D.X., Manchester L.C., Esteban-Zubero E., Zhou Z., Reiter r.J.: Melatonin as a potent and inducible endogenous antioxidant: Synthesis and metabolism. *Molecules*, 2015; 20: 18886-18906
- [67] Tan D.X., Manchester L.C., Terron M.P., Flores L.J., Reiter r.J.: One molecule, many derivatives: a never-ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species? *J. Pineal Res.*, 2007; 42: 28-42
- [68] Tan D.X., Reiter r., Manchester L., Yan M.T., El-Sawi M., Sainz r., Mayo J., Kohen r., Allegra M., Hardeland r.: Chemical and physical properties and potential mechanisms: Melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger. *Curr. Top. Med. Chem.*, 2002; 2: 181-197
- [69] Vincent B.: Protective roles of melatonin against the amyloid-dependent development of Alzheimer's disease: A critical review. *Pharmacol. Res.*, 2018; 134: 223-237
- [70] Vinther A.G., Claesson M.H.: The influence of melatonin on the immune system and cancer. *Int. J. Cancer Clin. Res.*, 2015; 2: 1-4
- [71] Wang J.Z., Wang Z.F.: Role of melatonin in Alzheimer-like neurodegeneration. *Acta Pharmacol. Sin.*, 2006; 27: 41-49
- [72] West K.E., Jablonski M.R., Warfield B., Cecil K.S., James M., Ayers

M.A., Maida J., Bowen C., Sliney D.H., Rollag M.D., Hanifin J.P., Brainard G.C.: Blue light from light-emitting diodes elicits a dose-dependent suppression of melatonin in humans. *J. Appl. Physiol.*, 2011; 110: 619-626

[73] Wu D., Cederbaum A.I.: Alcohol, oxidative stress, and free radical damage. *Alcohol. Res. Health*, 2003; 27: 277-284

[74] Wu Y.H., Feenstra M.G., Zhou J.N., Liu r.Y., Torano J.S., Van Kan H.J., Fischer D.F., Ravid r., Swaab D.F.: Molecular changes underlying reduced pineal melatonin levels in Alzheimer disease: alterations in preclinical and clinical stages. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2003; 88: 5898-5906

[75] Wu Y.H., Swaab D.F.: The human pineal gland and melatonin in aging and Alzheimer's disease. *J. Pineal Res.*, 2005; 38: 145-152

[76] Zabłocka A., Janusz M.: Dwa oblicza wolnych rodników tlenowych. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 118-124

[77] Zaremba T., Oliński r.: Oksydacyjne uszkodzenia DNA – ich analiza oraz znaczenie kliniczne. *Postępy Biochem.*, 2010; 2: 124-138

[78] Zawilska J.B., Nowak J.Z.: Rytmika okołodobowa i zegar biologiczny. *Sen*, 2002; 2: 127-136

[79] Zhang H.M., Zhang Y.: Melatonin: a well-documented antioxidant with conditional pro-oxidant actions. *J. Pineal Res.*, 2014; 57: 131-146

[80] Zimmermann r.C., McDougle C.J., Schumacher M., Olcese J., Mason J.W., Heninger G.R., Price L.H.: Effects of acute tryptophan depletion on nocturnal melatonin secretion in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1993; 76: 1160-1164

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.