Właściwości biologiczne melatoniny i jej zastosowania kliniczne u zwierząt

Rafał Zań, Zbigniew Roliński, Cezary Kowalski, Artur Burmańczuk, Bożena Polska

z Zakładu Farmakologii Katedry Przedklinicznych Nauk Weterynaryjnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie

Melatonina (MT, N-acetylo-5-metoksytryptamina) jest hormonem wytwarzanym przez szyszynkę. Jego poziomy są zmienne i podlegają wahaniom w cyklu dobowym, jak również w poszczególnych porach roku (1, 2). Melatonina jest związkiem drobnocząsteczkowym, dobrze rozpuszczalnym w wodzie i w tłuszczach, nie jest magazynowana w organizmie, przy czym szybkość jej uwalniania do krwiobiegu jest proporcjonalna do szybkości syntezy. U ssaków synteza melatoniny zachodzi poprzez jej prekursor – tryptofan, pobierany z krwi, a głównym enzymem biorącym udział w tym procesie jest N-acetylotransferaza (ryc. 1). Synteza melatoniny zachodzi przede wszystkim w szyszynce (3), niewielkie ilości tego hormonu są także wytwarzane przez siatkówkę i soczewkę oka (4), nabłonek przewodu pokarmowego i komórki krwi (5, 6). Uwalnianie hormonu jest regulowane przez postsynaptyczne receptory umiejscowione w zwoju szyjnym górnym, który unerwia przysadkę. Jądra nadskrzyżowaniowe podwzgórza, otrzymujące bodźce z siatkówki, uważane są za anatomiczny ośrodek zegara biologicznego, związany z dobowym cyklem świetlnym. W czasie godzin nocnych z jąder nadskrzyżowaniowych przesyłane są bodźce do zwoju szyjnego górnego i szyszynki, które stymulują sekrecję melatoniny. Stwierdzono, że jej sekrecja jest hamowana, zwłaszcza przez jaskrawe światło (7). Melatonina uczestniczy w regulacji wielu zachowań behawioralnych oraz procesów fizjologicznych u ludzi i zwierząt.

Receptory melatoninowe

Wiele biologicznych efektów melatoniny wywoływanych jest poprzez aktywację jej receptorów: błonowych – MT_1 i MT_2 sprzężonych z białkami regulacyjnymi wiążącymi nukleotydy guanylowe – białka G (8) oraz jądrowych, należących do rodziny receptorów ROR /RZR (retinoid orphan receptors / retinoid Z receptors; 9).

Oddziaływanie melatoniny przez receptory błonowe na różne typy białek G (Gi i Gq)

Biological properties and clinical use of melatonin in animals

Zań R., **Roliński Z.**, **Kowalski C.**, **Burmańczuk A.**, **Polska B.**, Division of Pharmacology, Department of Preclinical Veterinary Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

The purpose of this paper was to present and evaluate clinical usage of melatonin in animals. Melatonin (MT) is an indoleamine hormone synthesized and released by the pineal body during the hours of darkness. It may play a role in the control of regulation of gonadotropin release. Biological properties of MT make it a valuable therapeutic for clinical application in animals. An important effect of MT occurs via activation of MT receptors and result from the powerful antioxidative activity in protection of cellular DNA. It has also been described to play role in different forms of sleep disorders in humans. It was shown that MT acts in slowing the aging process in humans. These characteristics taken together with the safety in clinical usage, make melatonin a valuable therapeutic also in animals.

Keywords: sleep, aging, free radicals, dogs, alopecia, anxiety.

prowadzi do spadku wewnątrzkomórkowego cAMP i do wzrostu stężenia jonów wapnia oraz aktywacji fosfolipazy C. Receptory te uczestniczą również w regulacji działania kanałów wapniowych i jonowych oraz detoksykacji komórek. Natomiast receptory ROR/RZR uczestniczą w regulacji procesów immunologicznych, różnicowaniu ośrodkowego układu nerwowego oraz dojrzewaniu limfocytów T.

Melatonina jako przeciwutleniacz

Jeszcze inne efekty przypisuje się szczególnie silnemu działaniu antyoksydacyjnemu melatoniny, które chroni zwłaszcza jądrowe i mitochondrialne DNA. Należy podkreślić, że badania ostatnich lat wykazały, że melatonina jest jednym z najbardziej efektywnych zmiataczy wolnych rodników. Wykazano, że cechuje się ona 5-krotnie większą skutecznością w zmiataniu rodnika hydroksylowego ($OH^{\cdot}$) niż dobrze poznany endogenny antyutleniacz – glutation i jest 10-krotnie bardziej skuteczna niż inny znany zmiatacz tego rodnika – mannitol. Ponadto stwierdzono, że melatonina jest skuteczniejszym wymiataczem wolnych rodników niż powszechnie stosowane w tym celu – witaminy E i C (10, 11). Badania wykazały także, że melatonina stymuluje ekspresję genów oraz zwiększa aktywność najważniejszych enzymów antyoksydacyjnych: dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), peroksydazy glutationu (GPx) i katalazy (4).

Zależność wydzielania melatoniny od wieku

Stwierdzono, że rytm dobowy wydzielania melatoniny u człowieka zaczyna się pojawiać w ciągu 6–9 pierwszych tygodni życia, a w pełni wykształca się około 6 miesiąca (12). Następnie obserwowany jest wyraźny wzrost amplitudy nocnego wydzielania hormonu, która osiąga szczyt między 4. a 7. rokiem życia. W okresie dojrzewania płciowego zaczyna się powolny spadek poziomu wydzielania, który postępuje powoli, aż do osiągnięcia 40–50 roku życia. W dalszym okresie życia człowieka ma miejsce dalszy powolny spadek i po osiągnięciu 65–70 roku życia prawie całkowicie zanika rytm dobowy wydzielania melatoniny (13). Zachowanie się poziomu wydzielania tego hormonu u zwierząt (np. u psów) w zależności od wieku nie zostało tak dokładnie poznane jak u ludzi. O istotnym spadku poziomu wydzielania malatoniny u starych psów, podobnie jak u ludzi, świadczy m.in. rozwój zaćmy starczej. Dowiedziono także, że profilaktyczne stosowanie egzogennej melatoniny u starych psów może ograniczać powstawanie tego zaburzenia (14).

Melatonina w zaburzeniach snu

W chronobiologii przyjmuje się, że melatonina jest hormonem, który reguluje rytm dobowy dzień–noc oraz biorytmy sezonowe. Wykazano również, że jest ona biologicznym modulatorem nastroju, snu, zachowań seksualnych i reprodukcyjnych, funkcji immunologicznych oraz uczestniczy w zjawisku starzenia się (15).

Wpływ melatoniny na zmianę zachowania został dobrze udokumentowany u ludzi. Stwierdzono, że podawanie syntetycznego analogu tego hormonu w tabletkach prowadzi do działania uspokajającego, występowania związanej z czasem podania senności lub chęci do snu oraz do narastania charakterystycznych zmian w obrazie zapisu encefalogramu związanych ze snem (16). Dotychczasowe obserwacje prowadzone u ludzi wykazały, że dobowe i sezonowe zmiany w poziomach melatoniny prowadzą do zakłóceń procesu snu, bezsenności oraz do afektywnych zaburzeń, opisanych jako stany depresji, występujące najczęściej w okresie zimy (17).

Melatonina u ludzi przyspiesza zasypianie, zmniejsza liczbę nocnych wybudzeń oraz wydłuża całkowity czas trwania snu i poprawia jego jakość. Wykazano również u ludzi, że melatonina niweluje szereg przykrych dolegliwości (zaburzenia snu, zmęczenie, ból głowy, złe samopoczucie, dezorientacja, nadmierna drażliwość, brak koncentracji) związanych ze zmianą stref czasowych w czasie podróży międzykontynentalnych – jet-lag (18).

Inne zastosowania terapeutyczne

Obserwacje oparte na mniejszej liczbie przypadków klinicznych u ludzi wskazują na jeszcze inne możliwości zastosowania tego hormonu. Istnieją doniesienia wskazujące na jej pomocniczą rolę w zahamowaniu postępu choroby Alzheimera, korzystne oddziaływanie w chorobach układu krążenia (obniżanie ciśnienia krwi), możliwości jej stosowania w różnych typach sezonowych depresji (19, 20). W piśmiennictwie przytaczane są również doniesienia o cytostatycznym działaniu melatoniny w niektórych postaciach nowotworów płuc i raka piersi. Należy dodać, że liczba doniesień o przeciwnowotworowym działaniu melatoniny stale wzrasta (21). Ostatnie badania wykazały, że hormon ten osłabia również efekty niepożądanych działań leków przeciwnowotworowych (22).

Ewentualny udział melatoniny w ograniczaniu procesu starzenia się

Większość danych wskazujących na udział melatoniny w spowalnianiu procesu starzenia się uzyskano na podstawie badań przeprowadzonych na zwierzętach doświadczalnych. Wyniki tych badań wykazały wyraźne wydłużenie życia u myszy i szczurów, u których stosowano przewlekle w godzinach nocnych melatoninę, w porównaniu do grup kontrolnych nieotrzymujących syntetycznego analogu tego hormonu. Dodatkowo stwierdzono również skrócenie okresu życia u gryzoni pozbawionych szyszynki (23, 24). Znaczenie tego hormonu w ewentualnym ograniczaniu tempa starzenia się może wynikać z jego właściwości antyoksydacyjnych. Obniżenie poziomu wydzielania melatoniny następujące wraz z wiekiem i związany z tym spadek zdolności antyoksydacyjnych organizmu pozwala zakładać możliwość rozszerzenia dotychczasowych zastosowań terapeutycznych dla tego hormonu. Faktem jest, że zarówno wolne rodniki (25), jak i obniżona immunokompetencja (26) stanowią istotne czynniki w nasilaniu procesu starzenia się organizmu. Należy podkreślić, że przewlekłe stosowanie melatoniny u ludzi w podeszłym wieku jest stosunkowo bezpieczne z powodu niezwykle niskiej toksyczności i braku znaczących objawów działań niepożądanych (27). Ponadto wykazano, że melatonina obniża toksyczność i powoduje nasilenie działania wielu leków (28).

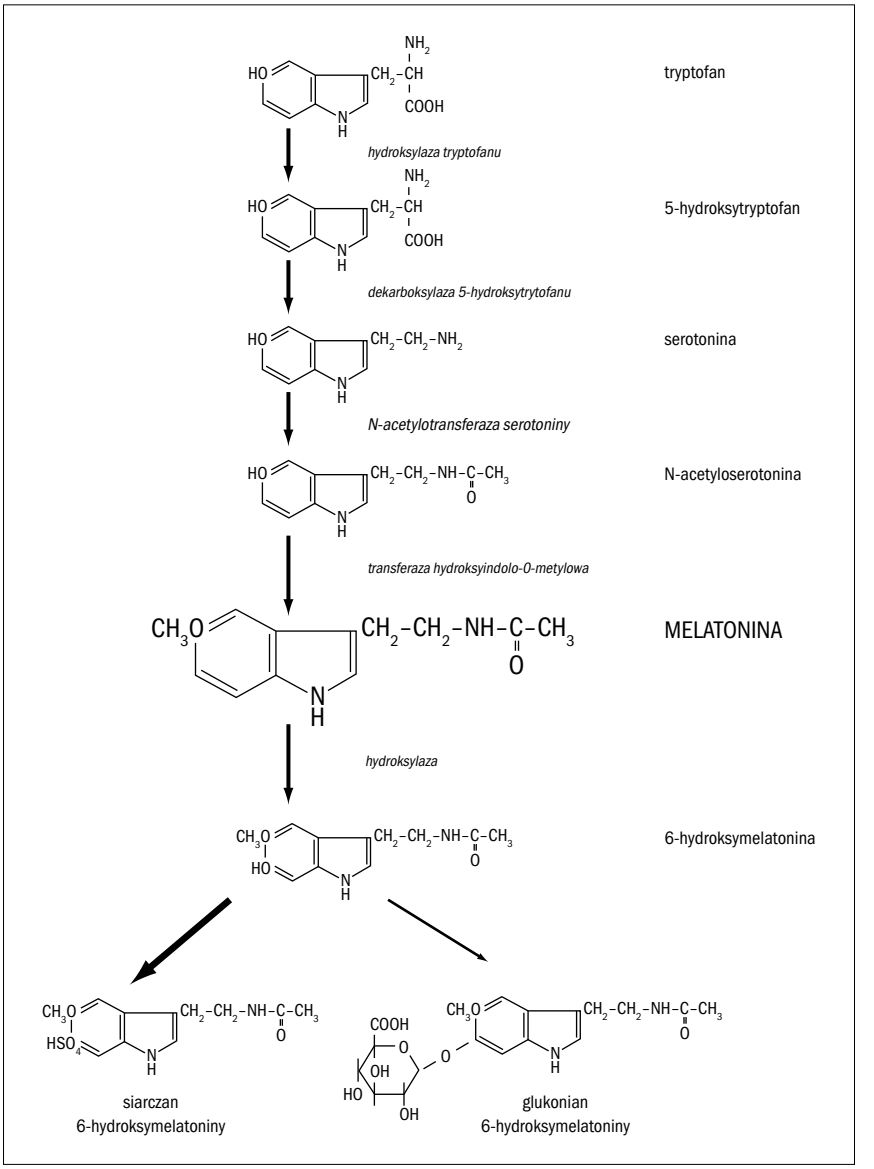
Bezpieczeństwo stosowania melatoniny

Obserwacje przedkliniczne zwierząt doświadczalnych (chomiki, myszy, szczury, koty) pozwalają uznać melatoninę za lek bardzo dobrze tolerowany. U wszystkich tych gatunków stosowano parenteralnie

wielokrotnie wyższe dawki melatoniny niż stosowane doustnie u ludzi przy różnych postaciach zaburzeń snu. Ustalona wartość LD_{50} dla myszy po podaniu doustnym wynosi aż 800 mg/kg m.c. (29). W innych badaniach wykazano, że melatonina w dawce 20 mg/kg m.c., *i.p.,* powodowała skrócenie czasu wystąpienia snu narkotycznego po pentobarbitalu, natomiast większe dawki >200 mg/kg m.c., *i.p.*, antagonizowały wystąpienie drgawek u myszy wywołanych elektrowstrząsami lub środkami chemicznymi, bez znaczących objawów niepożądanych. Obserwacje prowadzone na ludziach również potwierdzają, że melatonina charakteryzuje się szerokim marginesem bezpieczeństwa. U pacjentów z hiperpigmentacją skóry stosowano melatoninę w wysokiej dawce – 1 g /osobę/ 24 h przez 30 dni i obserwowano tylko minimalne działania niepożądane.

Melatonina jako potencjalny neuromodulator

Pomimo stałego postępu w badaniach nad nowymi lekami psychotropowymi na świecie, medycyna nadal nie dysponuje lekami, które w sposób w miarę selektywny tłumiłyby lub znosiły anormalne zachowanie (np. fobie lękowe) u ludzi i zwierząt. Przyczyną tego jest nadal niepełna wiedza o mechanizmach anormalnego zachowania. Przyjmuje się, że anormalne zachowanie ssaków wynika z działania wielu neuroprzekaźników, takich jak serotonina, acetylocholina, norepinefryna, kwas gamma-aminomasłowy i aminokwasy pobudzające (30). W przypadku melatoniny stwierdzono, że jest ona silnym inhibitorem uwalniania dopaminy i w ten sposób redukuje magazynowanie tego neuroprzekaźnika w ośrodkowym układzie nerwowym (31). Jednak przypisanie określonego typu zachowania do jednego ze wspomnianych neuromediatorów wymaga dalszych badań. Zgromadzone w ostatnich latach dane o wielu funkcjach tego hormonu w organizmie ssaków pozwalają również na zaliczenie go do grupy neuroprzekaźników/neuromodulatorów (32). Działanie uspokajające i przeciwdrgawkowe melatoniny u dzieci i dorosłych tłumaczy się jej oddziaływaniem na receptory GABA-ergiczne i benzodiazepinowe. Stosowanie jednoczesne pochodnych benzodiazepiny (np. diazepamu), łącznie z melatoniną, umożliwia zredukowanie dawki tej grupy leków przeciwlękowych. Jej neuromodulacyjne efekty wyrażają się działaniem uspokajającym, które może ograniczać różne anormalne zachowania, zwłaszcza w przypadku stanów lękowych. Przyrost populacji zwierząt towarzyszących człowiekowi (np. psów) stwarza konieczność poszukiwania nowych leków wpływających



Ryc. 1. Synteza i metabolizm melatoniny (44)

na anormalne zachowanie tych zwierząt, przejawiające się niepokojem lub lękiem z towarzyszącą im bezsennością.

Wprowadzenie melatoniny do medycyny weterynaryjnej można uznać za stosowną potrzebę, ponieważ na krajowym rynku leków dla zwierząt występuje ograniczona ilość środków przeciwlękowych.

Przypadki stosowania melatoniny u zwierząt

Dotychczasowe zastosowania melatoniny u zwierząt nie są zbyt liczne i obejmują różne dziedziny zastosowań terapeutycznych. Najwcześniej stosowano ją przy czerniaczce (melanizm) u psów (33). Stosunkowo często stosowano melatoninę u zwierząt (owce, kozy, sarny) w postaci implantów przed sezonem rozrodczym w celu nasilania owulacji i wydłużenia okresu stanowienia (34, 35, 36). Opisano też jej zastosowanie w stanach stresu (izolacja) u kurcząt (37). Odnotowano korzystne działanie melatoniny w przypadku niepokoju u czarnego niedźwiedzia przy zaburzeniach snu zimowego (38). Próbowano również stosować ten hormon przy nawrotowych, obustronnych wyłysieniach w okolicy pachwin u psów (39) oraz przy zapaleniu mieszków włosowych (40), a także jako środek ochronny przy ekstrakcji zębów (bezpośrednio do zębodołu; 41). Najczęściej jednak opisywane w piśmiennictwie zastosowania melatoniny u psów dotyczą różnych stanów lękowych opisywanych przez różnych autorów (42, pilotowe obserwacje własne), które zostały przedstawione poniżej.

Pilotowe badania wskazują na możliwość stosowania syntetycznego analogu melatoniny w przypadkach lęku psów w trakcie burzy, przy wystrzałach, wybuchach petard lub innych głośnych hałasach. Objawy kliniczne przy fobii w wyniku hałasu to przede wszystkim przyspieszenie oddechów i drżenie ciała. Dodatkowe objawy często występujące to: szukanie stałego

kontaktu z właścicielem, skowyczenie, załatwianie się w domu, puste żucie, kopanie w ziemi lub drapanie dywanu czy chowanie się pod koc lub kołdrę. Przy bardzo silnym lęku przed burzą psy mogą wpadać w panikę: zderzać się z oknami, próbować przedzierać się przez drzwi z siatki, uciekać do ogrodu lub wpadać pod samochody. Według autorów podawanie melatoniny niwelowało objawy lękowe związane z wyładowaniami atmosferycznymi występującymi w trakcie burzy u ok. 80% obserwowanych psów.

Dawkowanie melatoniny

1. Przypadki chorobliwego lęku (fobii) u psów, związane z nadmiernym hałasem (na 2 godz. przed burzą – przy przewidywaniu burzy lub wyjściem z domu): psy do 7 kg m.c. – 1 mg, psy 7–13 kg m.c. – 1,5 mg, psy 13–40 kg m.c. – 3-5 mg, nieco wyższe dawki – 6–7 mg dla psów o jeszcze większej masie ciała, w razie potrzeby takie dawki mogą być powtarzane 2–3 razy dziennie. Takie samo dawkowanie może mieć zastosowanie przy zaburzeniach w zachowaniu związanych z różnymi formami stresu. Dawki te przy długotrwałym hałasie mogą być powtarzane 2–3 razy dziennie.
2. Przypadki stresu objawiające się m.in. nadmiernym wylizywaniem. Dawkowanie jak wyżej, stosowane przez 2–3 dni.
3. Wspomaganie terapii przy nocnych napadach drgawkowych, powtarzających się co 3–4 tygodnie, w godzinach pomiędzy 23 a 6 rano. Dawkowanie: psy do 15 kg m.c. – 1,5 mg, psy od 15–50 kg m.c. – 3 mg, psy większe – 6 mg; podaje się 20 minut –1 godzinę przed snem.
4. Niepokój spowodowany wyjściem do pracy właściciela lub dłuższą rozłąką. Podawano 3 mg/psa przed wyjściem właściciela z domu.
5. Stosowanie profilaktyczne u starszych psów zagrożonych wystąpieniem zaćmy. Dawkowanie: psy 20–25 kg m.c. 5 mg/dzień przez 60 dni.
6. Stosowanie u psów ratowniczych w celu zapobiegania stanom lękowym przy podróżach samolotami odrzutowymi. Dawkowanie: 0,1 mg/kg m.c., 2 razy dziennie, przez 2–3 dni.
7. Stosowanie w cyklicznym hamowaniu wzrostu włosów (alopecia X, pseudo – Cushing syndrome). Choroba ta występuje u młodych dojrzałych płciowo psów (1–3 lata) zarówno u samców, jak i samic. Charakteryzuje się obustronną utratą włosów i hiperpigmentacją na szyi, tułowiu, ogonie i w ograniczonym stopniu również na głowie i przednich kończynach (43). Dawkowanie: 3–6 mg/psa, 2 razy dziennie, przez 3 miesiące. U 6 psów (40%) z grupy poddanej terapii uzyskano poprawę w postaci odrostu okrywy włosowej.
8. Dysplazja mieszków włosowych z towarzyszącymi wyłysieniami i hiperpigmentacją okolic bocznych tułowia u bokserów (31). Dawkowanie: 3 mg/psa 2 razy dziennie przez 2–4 miesiące.
9. Koty: niepokój związany z nieobecnością właściciela lub podróżą można próbować dawki 1 mg/kota, 2–3 razy dziennie na 1 lub 2 godziny przed pozostawieniem kota samego lub przed podróżą.

Piśmiennictwo

1. Dollins A.B., Zhdanova I.V., Wurtman R.J.: Effect of inducing nocturnal serum melatonin concentrations in daytime on sleep, mood, body temperature, and performance. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1994, **91**, 1824-1828.
2. Garfinkel D., Laudon M., Nof D.: Improvement of sleep quality in elderly people by controlled-release melatonin. *Lancet* 1995, **346**, 541-544.
3. Karasek M., Kuzdak K., Cywiński J., Żylińska K., Śmiałowska A., Płużańska A.: Effects of melatonin administration in advanced breast cancer patients – preliminary report. *Neuroendocrinol. Lett.* 1998, **19**, 15-19.
4. Reiter R.J., Tan D.X., Osuna C., Gitto E.: Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. *J. Biomed. Sci.* 2000, **7**, 444-458.
5. Carrillo-Vico A., Lardone P.J., Fernandez-Santos J.: Human lymphocyte-synthesized melatonin is involved in the regulation of the IL-2/IL-2 receptor system. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005, **90**, 992-1000.
6. Reiter R.J.: The pineal gland and melatonin in relation to aging: a summary of the theories and of the data. *Exp. Gerontol.* 1995, **30**, 199-212.
7. Cavallo A.: The pineal gland in human beings: relevance to pediatrics. J. Pediatr., 1993, **123**, 843-851.
8. Dubocovich M.L., Masana M.I., Benckoucif S.: Molecular pharmacology and function of melatonin receptor subtypes. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1999, **460**, 181-190.
9. Carlberg C., Wiesenberg I., Schräder M.: Nuclear signaling of melatonin. *Front. Horm. Res.* 1997, **23**, 25-35.
10. Beyer C.E., Steketee J.D., Saphier D.: Antioxidant properties of melatonin – an emerging mystery. *Biochem. Pharmacol.* 1998, **56**, 1265-1272.
11. Popławski P.T., Derlacz R.A.: Jak działa melatonina? *Post. Bioch.* 2003, **49**, 9-17.
12. Kennaway D.J., Stamp G.E., Goble F.C.: Development of melatonin production in infants and the impact of prematurity. *J. Clin. Endocrinol. Metab,* 1992, **75**, 367-369.
13. Waldhauser F., Kovacs J., Reiter E.: Age-related changes in melatonin levels in humans and its potential consequences for sleep disorders. *Exp. Gerontol.* 1998, **33**, 759-772.
14. Madany J.: *Badania nad zaćmą psów ze szczególnym uwzględnieniem stanu antyoksydacyjnego.* Rozprawy naukowe Akademii Rolniczej w Lublinie, 2004.
15. Brzeziński A.: Melatonin in humans. *New Engl. J. Med,* 1997, **336**, 186-195.
16. Tzischinsky O., Lavie P.: Melatonin possesses time-dependent hypnotic effects. *Sleep* 1994, **17**, 638-645.
17. Danilenko K., Putilov A.: Melatonin treatment of winter depression following total sleep deprivation: waking EEG and mood correlates. *Neuropsychopharmacol.* 2005, **30**, 1345-1352.
18. Suhner A., Schlagenhauf P., Johnson R., Tschopp A., Steffen R.: Comparative study to determine the optima melatonin dosage form for the alleviation of jet lag. *Chronobiol. Int.* 1998, **15**, 655-666.
19. Birau N., Petterseen U., Meyer C., Gottschalk J.: Hypotensive effect of melatonin in essentials hypertension. *IRCS Med. Sci.* 1981, **9**, 906-908.
20. Brusco L.I., Marquez M., Cardinali D.P.: Melatonin treatment stabilizes chronobiologic and cognitive symptoms in Alzheimer's disease. *Neuroendocrinol. Lett.* 1998, **19**, 111-115.
21. Vijayalaximi T., Russel R., Herman T.: Melatonin: From basic research to cancer treatment clinics. *J. Clin. Oncol.* 2002, **20**, 2575-2601.
22. Mills E. Wu P., Seely D., Guyatt G.: Melatonin in the treatment of cancer: A systematic review of randomized controlled trials and meta-analysis. *J. Pineal Res.* 2005, **39**, 360-366.
23. Pierpaoli W., Regelson W.: Pineal control of aging: effect of melatonin and pineal grafting in aging mice. *Proc. Nat. Acad. Sci.* USA 1994, **91**, 787-791.
24. Reiter R.J., Melchiori D., Sewerynek E., Poeggeler B., Barlow-Walden L.,Chuang J.I., Ortiz G.G., Acuna-Castroviejo D.: A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. *J. Pineal Res.* 1995, **18**, 1-11.
25. Harman D.: Ageing: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.* 1956, **11**, 298-300.
26. Maestroni G.J.M.: The immunotherapeutic potential of melatonin. *Expert Opin. Investig. Drugs* 2001, **10**, 467-476.
27. Karasek M., Reiter R.J., Cardinali D.P., Pawlikowski M.: The future of melatonin as a therapeutic agent. *Neuroendocrinol. Lett.* 2002**, 23 (suppl 1)**, 118-121.
28. Reiter R.J., Tan D.X., Sainz R.M., Mayo J.C., Lopez-Burillo S.: Melatonin: reducing the toxicity and increasing the efficacy of drugs. *J. Pharm. Pharmacol.* 2002, **54**, 1299-1321.
29. Brachas J., DaCosta F., Spector S.: Acute pharmacology of melatonin. *Nature* 1967, **21**, 919-920.
30. Boothe D.M.: Drugs affecting animal behavior. W: *Veterinary Pharmacology and Therapeutics.* H.R. Adams. IOWA State University Press Ames, 2001.
31. Alexiuk N.A.M., Vriend J.P.: Melatonin reduces dopamine content in the neurointermediate lobe of male Syrian hamsters. *Brain Res. Bull.* 1993, **32**, 433-436.
32. Rizzo V., Porta C., Moroni M., Scoglio E., Moratti R.: Determination of free and total (free plus protein – bound) melatonin in plasma and cerebrospinal fluid by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Chromatogr. B* 2002, **774**, 17-24.
33. Rickards D.A.: The therapeutic effect of melatonin on canine melanosis. *J. Invest. Dermatol.* 1965, **44**, 13-16.
34. Molik E., Ciuryk S.: Rola melatoniny w regulacji poziomu prolaktyny u owiec. *Medycyna Wet.* 2003, **59**, 104-106.
35. Staplez L., McPhee S., Kennaway D., Williams A.: The influence of exogenous melatonin on seasonal patterns of ovulation and oestrus in sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 1992, **30**, 185-223.
36. Zawilska J.B., Nowak J.Z.: Melatonina: regulacja biosyntezy, rola fizjologiczna i znaczenie terapeutyczne. *Farm. Pol.* 1997, **53**, 99-108.
37. Nelson E., Panksepp J., Ikemoto S.: The effects of melatonin on isolation distress in chickens. *Pharm. Biochem. Behav.* 1994, **49**, 327-333.
38. Uchida Y., Dodman N.H., DeGhetto D.: Animal behavior case of the month. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1998, **212**, 354-355.
39. Paradis M.: Canine recurrent flank alopecia: treatment with melatonin. *Proc. Ann. Memb. Meet. Am. Acad. Vet. Dermatol.* 1995, **11**, 49.
40. Rachid M.A., Demaula C.D., Scott D.W., Miller W.H., Senter D.A., Meyers S.: Concurrent follicular dysplasia and interface dermatitis in Boxer dogs. *Vet. Dermatol.* 2003, **14**, 159-166.
41. Cutando A. i Arana C., Gomes-Moreno G., Escames G., Lopez A.: Local application of melatonin into alveolar socket of Beagle dogs reduces tooth removal – induced oxidative stress. *J. Periodontology* 2007, **78**, 576-583.
42. Aronson L.: Animal behavior case of the month. JAVMA, 1999, **215**, 22-23.
43. Frank L.A., Hnilica K., Oliver J.: Adrenal steroid hormone concentrations in dogs with hair cycle arrest (Alopecia X) before and during treatment with melatonin and mitotane. *Vet. Dermatol.* 2004, **15**, 278-284.
44. Karasek M., Lewiński A., Reiter R.J.: Melatonina: znaczenie kliniczne i zastosowanie terapeutyczne. *Endokrynol. Pol./Pol. J. Endocrinol.* 2001, **52**, 81-100.

Praca finansowana za środków na naukę w latach 2009–2012 jako projekt badawczy (projekt nr N N308 386137).

Dr Rafał Zań, Zakład Farmakologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin