

Efectos de la administración precoz de melatonina en pacientes críticos traumatizados

Effects of early melatonin administration on traumatized critical patients

M.D. Maldonado¹, F. Murillo-Cabezas², J.R. Calvo¹.

Resumen

Los pacientes críticos traumatizados PCT poseen una elevada morbi-mortalidad y las causas pueden ser multifactoriales: el aumento del estrés oxidativo, la alteración de las defensas inmunes, las infecciones oportunistas, las alteraciones circulatorias y hormonales, la pérdida del ritmo circadiano vigilia-sueño y la toxicidad de los fármacos empleados.

La melatonina, una molécula liberada por la glándula pineal y otros lugares extrapineales, presenta acciones muy protectoras contra los daños sufridos tras el trauma, entre ellas: su papel como scavenger (limpiador de radicales libres) directo e indirecto neutralizando metabolitos nocivos del oxígeno y nitrógeno y activando enzimas antioxidantes; su acción inmunomoduladora pudiendo intervenir en la inmunidad evitando infecciones oportunistas; su actuación resincronizadora del ritmo vigilia-sueño favoreciendo el descanso; su efecto reductor de la toxicidad de los fármacos usados en el tratamiento de los pacientes, etc. Esta revisión temática, intenta explicar las ventajas por las que aconsejamos administrar melatonina en pacientes traumatizados.

Palabras clave: Lesión neurológica. Alteración inmune. Estrés oxidativo. Melatonina.

Summary

The traumatized critical patients TCP are the most frequent cause of morbid-mortality and the origin are multifactorial and include: the strong formation to free radical and oxidative stress, the suppression of non-specific resistance, the disturbance in the immune system, the opportunistic infections, regional macro and microcirculatory alterations, disruptive sleep-wake cycles and toxicity caused by therapeutic agents.

¹Departamento de Bioquímica Médica y Biología Molecular. Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla.

²Centro de Rehabilitación y Traumatología del Hospital Universitario Virgen del Rocío de Sevilla.

Correspondencia: Dra. M^a. Dolores Maldonado y Aibar
Departamento de Bioquímica Médica y Biología Molecular
Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla
Avda. Sánchez Pizjuán 4
41009 Sevilla
E-mail: aibar@us.es

Melatonin, is a molecule released mainly from pineal gland, have been found as a protective agent against damage following craniocerebral trauma and burns. Some of the actions that contribute to use melatonin as support pharmacology in TCP are: role as scavenger both oxygen- and nitrogen-based reactants, stimulation of the activities of a variety of antioxidative enzymes; avoiding lymphocytopenia and infections by opportunistic organisms; chronobiotic effects of melatonin and reduction in the toxicity of the drugs used in protocols to treat trauma patients, etc. This review, tries to explain the advantages to administer premature ly melatonin on patients traumatized.

Key words: Neurological damage. Immune system disturbed. Oxidative stress. Melatonin.

INTRODUCCIÓN

El trauma, ya sea traumatismo craneoencefálico (TCE), politraumatismo o quemaduras, conduce a dos tipos de lesiones que pueden ser denominadas lesiones primarias o locales, acontecidas en los primeros momentos como consecuencia de la fuerza mecánica del impacto o de la zona inicial de piel quemada, y lesiones secundarias o sistémicas que ocurren algún tiempo después de las lesiones primarias y que conllevan la generación de radicales libres, procesos neuroinflamatorios, alteraciones vasculares y de la coagulación, alteraciones inmunológicas y hormonales, aumento de infecciones, etc. (31, 35). Para mantener con vida a estos pacientes, estabilizar sus constantes vitales y reparar los daños surgidos, se han empleado numerosos tratamientos.

La melatonina es una molécula liberada principalmente de la glándula pineal y de otros lugares del organismo, posee una gran cantidad de propiedades antioxidantes destacando su papel directo como scavenger, neutralizando radicales libres de oxígeno y nitrógeno ROS/RNS, e indirecto activando una serie de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, glutatión reductasa, etc. Melatonina ha demostrado su poder para proteger en contra del daño, por estrés oxidativo, en modelos experimentales de edema cerebral, shock hemorrágico, quemaduras, infarto cortical, epilepsia postraumática y otras muchas situaciones adversas (25, 32). En estas condiciones experimentales, la melatonina consiguió reducir el daño molecular, la muerte celular, la pérdida de tejidos y la función de los diferentes órganos.

En todos los tejidos del organismo, y especialmente en el cerebro, existe un equilibrio entre la producción de radicales libres y los sistemas

naturales antioxidantes endógenos. El trauma rompe este equilibrio y genera una sobreproducción de radicales libres con el consiguiente daño celular y mitocondrial. Los daños en la mitocondria reducen la producción de ATP y promueven la muerte de las células. La melatonina al disminuir el daño por radicales libres aumenta la producción de ATP y mejora el funcionamiento de la mitocondria (1).

Los traumatismos también producen una disminución de las defensas inmune, tanto innata, como adaptativa y una pérdida del ritmo circadiano de liberación de melatonina. Todo esto, conduce a un aumento de la vulnerabilidad de estos pacientes a las infecciones oportunistas e incluso al shock séptico. Estas situaciones se acompañan de una elevación en la producción y liberación de mediadores pro-inflamatorios como: citoquinas, quimioquinas, moléculas de activación y adhesión y una profunda linfopenia a expensas principalmente de linfocitos T (16, 19, 20). En este sentido, la melatonina ha demostrado una potente acción, no sólo como antioxidante, sino también como inmunomoduladora, reduciendo las moléculas de activación y adhesión, promoviendo el sueño y disminuyendo la toxicidad de otros fármacos. Por todo ello, consideramos que el uso diario de melatonina concomitantemente con los medicamentos habituales empleados en traumas y quemaduras, ayudaría a mejorar el proceso evolutivo de estos pacientes (28).

DAÑO POR ESTRÉS OXIDATIVO Y TERAPIA ANTIOXIDANTE EN PACIENTES CRÍTICOS TRAUMATIZADOS

El daño sistémico generado después de un traumatismo, provoca un aumento de la coagula-

ción y polimerización de la fibrina, dando lugar a la formación de micro trombos intravasculares; a esto hay que añadir una alteración de la homeostasis por hipovolemia y como consecuencia, los tejidos son sometidos a isquemia/reperfusión con carácter transitorio (31). Estos periodos críticos donde las células son expuestas a hipoxia/anoxia y posterior reoxigenación, conduce a la generación de una masiva cantidad de ROS/RNS, las cuales favorecen la aparición de una serie de enfermedades a nivel de la piel, pulmón, riñón, hígado, mucosa gástrica y sistema nervioso central entre otros (11, 28, 31).

El trauma está asociado con una fuerte respuesta inflamatoria que favorece la formación de edemas y rotura de las barreras cráneo-encefálica y de la piel. Los mediadores proinflamatorios entre los que se incluyen ROS/RNS son los que inician y regulan estos procesos. Numerosos estudios han demostrado que el factor nuclear κ B (FN- κ B) juega un papel fundamental en la regulación de los genes responsables de la generación de mediadores o proteínas inflamatorias como por ejemplo tumor necrosis factor- α (TNF α), interleuquina-1 (IL-1), VCAM-1, ICAM-1 y la óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS) (3, 22).

La terapia antioxidante convencional, forma parte de los fármacos empleados en el tratamiento de PCT con el objetivo de prevenir el estrés oxidativo. Sin embargo, estos antioxidantes tienen una eficacia limitada (9, 37). La melatonina, un producto derivado del metabolismo del triptófano, es un antioxidante directo e indirecto mucho más potente que los antioxidantes convencionales (vit. E, vit. C, β -carotenos etc.). Además, muchos de los metabolitos de la melatonina, son en si mismos antioxidantes directos como por ejemplo: N¹-acetil-N²-formil-5-metoxikinuramina (AFMK) y N¹-acetil-5-metoxikinuramina (AMK). AMK es incluso un potente inhibidor de la enzima pro-oxidante NOS (7, 36).

Numerosos trabajos han demostrado el papel protector de la melatonina en células lesionadas por estrés oxidativo tras el trauma, así: melatonina a) protege el ADN nuclear y mitocondrial, los lípidos de membrana y las proteínas citosólicas; b) bloquea los mediadores oxidativos que inician la respuesta inflamatoria como por ejemplo reduciendo la activación de NF- κ B; c) inhibe

la enzima óxido nítrico sintetasa (NOS); d) detoxifica ROS y RNS, e) estimula enzimas antioxidantes; f) mejora la fosforilación oxidativa. (27, 34). Además, la melatonina, por su carácter lipofílico cruza todas las barreras morfo-funcionales del organismo, tiene una amplia distribución intracelular, estabiliza la fluidez de las membranas celulares disminuyendo así el volumen de tejidos infartados, el edema y la muerte celular (28).

Algunos TCE cursan con hemorragias corticales, con extravasación de sangre y ruptura de eritrocitos y hemoglobina. El hierro liberado de la hemoglobina y la hemoglobina en si misma, están asociados con la formación de ROS y RNS; estos reactantes están implicados en la aparición de ataques epilépticos post-traumáticos. Los reactantes ROS son responsables de la inducción de lipoperoxidación en membranas neuronales, así como de las alteraciones en los neurotransmisores excitadores o inhibidores de estas células (29, 39). La melatonina inhibe los ataques epilépticos inducidos por el hierro, actuando como un scavenger directo e indirecto y profilácticamente, evitando que aparezcan cuando se administra precozmente tras el trauma (15).

SISTEMA INMUNE EN PACIENTES CRÍTICOS TRAUMATIZADOS

La sepsis es una de las principales causas de muerte en pacientes críticos traumatizados. La activación de factores pro-inflamatorios juega un importante papel en la aparición de alteraciones inmunológicas, que hacen a estos pacientes especialmente vulnerables a padecer infecciones que pueden conducirles a fallo multiorgánico e incluso a la muerte.

El sistema inmune está formado por una compleja red de células conexas entre sí, que circulan por todo el organismo para defendernos de posibles agentes infecciosos. De forma genérica, podemos hablar de dos tipos de respuesta inmune: la inmunidad innata llevada a cabo por la piel, las mucosas y reacciones inflamatorias y la inmunidad adaptativa, llevada a cabo por células y anticuerpos. Ambos tipos de respuesta inmune se presentan disminuidas en pacientes críticos traumatizados, especialmente la respuesta inmune celular llevada a cabo por los linfocitos T coo-

peradores (Th); éstos además actúan sobre los linfocitos T citotóxicos (Tc) y B activándolos, por consiguiente también se verán alterados.

En nuestros trabajos, los pacientes críticos traumatizados presentaban una profunda depresión del sistema inmune, destacando: anergia cutánea, linfopenia Th, inversión del cociente Th/Tc, disminución de linfocitos B en número y en actividad funcional, aumento de los reactivantes de fase aguda y de citoquinas pro-inflamatorias (IL-1, IL-6, IL-8 y TNF α) (16, 19, 20). Al mismo tiempo pudimos observar, que junto con la disminución en números absolutos de linfocitos T, aparecía un aumento de células T que expresaban en sus membranas moléculas de activación (CD25, CD69 y CD71) y adhesión (CD11c, CD49a y CD54) y este aumento en la adhesividad de los linfocitos podía ser la responsable de la disminución de los mismos en sangre periférica. Nosotros sugerimos que la inmunodeficiencia sufrida por pacientes críticos traumatizados no es en si misma una deficiencia, sino más bien la consecuencia de la excesiva activación y adhesión de los linfocitos T, los cuales quedan pegados en las paredes de los vasos e imposibilitados para efectuar su acción defensiva allí donde fuese menester (16, 17). Todos estos cambios observados fueron transitorios y los linfocitos volvieron a las cifras normales (Fig. 1, 2, 3) y a la desaparición de moléculas de activación y adhesión, a medida que el paciente evolucionaba favorablemente. Por el

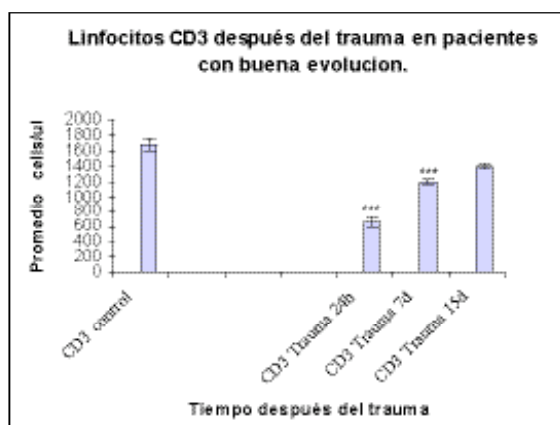


Figura 1

El trauma generó una disminución de los linfocitos T, estadísticamente significativa tras 24 horas y 7 días, con respecto al grupo control

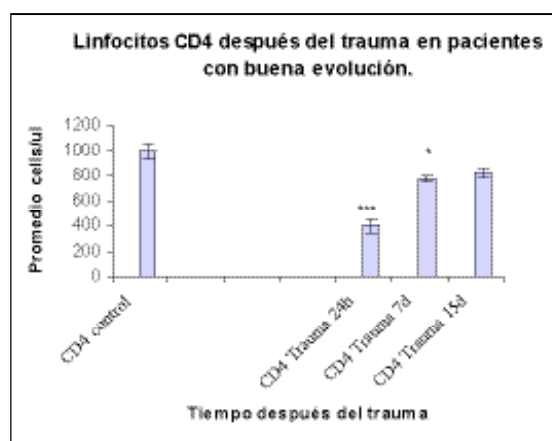


Figura 2

El trauma generó una disminución de los linfocitos T helper, estadísticamente significativa tras 24 horas y 7 días, con respecto al grupo control

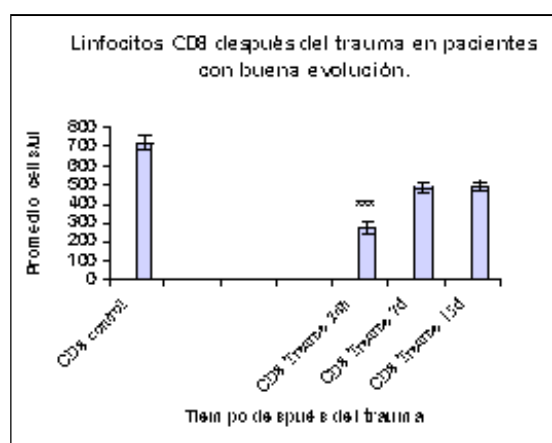


Figura 3

El trauma generó una disminución de los linfocitos T citotóxicos, estadísticamente significativa tras 24 horas, con respecto al grupo control

contrario, los pacientes que no sobrevivieron, no recuperaron las cifras normales de linfocitos (Fig. 4) y las moléculas de activación y adhesión permanecieron elevadas.

En nuestro seguimiento de pacientes quemados, pudimos comprobar que dos pacientes con quemaduras superiores al 30%, mostraron 11% de linfocitos T doblemente positivos (CD4+CD8+) inmediatamente después del accidente, y a medida que el paciente y el número de linfocitos T

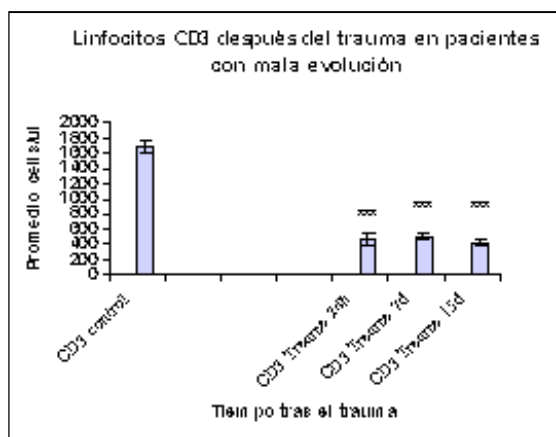


Figura 4

El trauma generó una disminución de los linfocitos T, estadísticamente significativa tras 24 horas, 7 días y 15 días, con respecto al grupo control. Estos pacientes necesitaron más tiempo para su recuperación y en algunos casos murieron

se recuperaba, el fenotipo doblemente positivo disminuía hasta desaparecer. Las quemaduras severas, parecen inducir una amplia activación linfocitaria y cambios fenotípicos inusuales, quizás el sistema inmune en su necesidad de mejorar la eficacia de la respuesta inmune en estos pacientes, libera linfocitos inmaduros CD4+CD8+ al torrente circulatorio, o quizás active un segundo timo ectópico temporal para cubrir la situación defensiva de emergencia (38).

La relación entre el sistema inmune y la melatonina ha sido ampliamente documentada, actuando ésta como moduladora de la respuesta inmune, en concreto reduciendo la producción/secreción de citoquinas proinflamatorias (8), aumentando la actividad de los linfocitos Th y producción de IL-2 en linfocitos humanos (4) y reduciendo la producción de moléculas de adhesión (18). Luego podemos decir que la melatonina mejora la evolución inmunológica y clínica de los pacientes críticos traumatizados.

TRAUMATISMOS Y ALTERACIONES DEL SUEÑO

Los traumas generan una serie de alteraciones en el organismo, entre las que destacan una pérdida del ritmo circadiano de liberación de melatonina,

producidas por los efectos fisiológicos del propio accidente (23). Esto a su vez, se acompaña de una disfunción del ciclo vigilia-sueño y consecuentemente una pérdida del descanso de los pacientes (10).

La alteración del sueño en pacientes críticos traumatizados ha sido puesta de manifiesto por los propios pacientes, por las observaciones recogidas en las historias clínicas del personal médico y de enfermería y por pruebas complementarias objetivas como el electroencefalograma, electromiograma y electroculograma (6). Las causas de esta falta de sueño son múltiples, destacando que son pacientes que están ingresados en las unidades de cuidados intensivos; lugares de ambiente muy artificial, con luces permanentemente encendidas, ruidos, el propio dolor y picor que generan las lesiones acontecidas, la inmovilidad en la cama, la molestia que supone la toma continua de constantes vitales y administración de fármacos por parte del personal sanitario etc.

Señalamos aquí, con especial interés, que la presencia de luz artificial en las UCI durante la noche, provoca en los pacientes una supresión en la liberación de melatonina por parte de la glándula pineal y en consecuencia una alteración del sueño (40). Además, la falta de sueño genera un cambio en los niveles de cortisol, debilitamiento de las respuestas inmunes, disfunciones cognitivas y un aumento del riesgo de cáncer (26).

Hay en la literatura una gran cantidad de trabajos, tanto en modelos animales como en humanos, que demuestran el papel de la melatonina en la inducción del sueño y en la restitución de los ritmos biológicos circadianos, y esta capacidad de resincronizar el reloj biológico la realiza sin causar efectos indeseables, ni dependencia farmacológica (23, 40). Además, la melatonina tiene también propiedades ansiolíticas, sedativas, anti-convulsiantes y antinociceptivas (21) que la hacen muy útil como tratamiento en la recuperación del sueño.

Por todo ello, consideramos que la administración diaria de melatonina, en pacientes críticos traumatizados, puede ser una estrategia útil para mejorar la evolución y descanso, un mecanismo para reducir el riesgo de alteraciones en los ritmos biológicos y una forma de mejorar la calidad de vida de estos pacientes.

TRAUMATISMOS Y TOXICIDAD POR FÁRMACOS

Los PCT son tratados con una gran cantidad de fármacos (antinflamatorios, antipsicóticos, anti-convulsionantes, antiálgicos, antibióticos, etc.) con el objetivo de mantener sus constantes vitales y reparar los daños causados. Muchos de estos fármacos aunque necesarios, poseen efectos indeseables y reacciones tóxicas, a menudo mediadas por radicales libres y reactantes relacionados. En este sentido, la melatonina por su acción antiestrés oxidativo sería un tratamiento coadyuvante válido para reducir la toxicidad de estos fármacos y aumentar su eficacia (25).

Melatonina

Aunque son necesarios más ensayos clínicos para establecer las indicaciones, dosis y grado de seguridad de melatonina, basándonos en los trabajos clínicos ya realizados (30), la melatonina podría ser administrada en PCT a razón de 20 mg diarios durante el tiempo que el paciente debe permanecer en el hospital (entre 28 y 30 días) y continuar durante un año, en régimen domiciliario, tomando 10 mg/día. La vía de administración podría ser oral o parenteral, dependiendo de la situación de cada paciente (5) y las horas de administración serían de 8 a 11 de la noche, haciéndola coincidir con los picos circadianos fisiológicos nocturnos de melatonina.

Considerando que la melatonina es una molécula inmunomoduladora, es posible que algunas enfermedades autoinmunes como por ejemplo la artritis reumatoide (AR), podrían empeorar (14). Este hallazgo debe ser aún establecido para otras enfermedades autoinmunes.

Antibióticos

Las infecciones y sepsis padecidas por PCT hacen necesario el uso de antibióticos en sus tratamientos. El alarmante aumento de las resistencias antibióticas bacterianas (ejemplo *Pseudomonas aeruginosa*, *Stafilococcus* resistente a meticilina, *Enterococcus* resistente a vancomicina, etc.) han conducido a un mayor número de heridas infectadas y en definitiva a un aumento de la morbi-mortalidad en pacientes traumatizados.

Penicilina y beta-lactámicos derivados

Los beta-lactámicos son antibióticos usados en el tratamiento de infecciones bacterianas producidas por bacterias gram positivas sensibles. Asociada a su acción anti-infecciosa presenta una serie de efectos adversos como alergia/hipersensibilidad, diarrea, vómitos, petequias, fiebre y convulsiones entre otras. La co-medición de este antibiótico con melatonina reduce el riesgo de aparición de alergia/hipersensibilidad por inhibición de los leucotrienos B₄ (13), además 40 u 80 mg de melatonina administrada 10 minutos antes de la inyección de penicilina reduce la presencia de convulsiones por el uso de estos antibióticos (41).

La Gentamicina

Los PCT, como consecuencia de sus alteraciones en las respuestas inmunes innata y adaptativa, son especialmente vulnerables a padecer todo tipo de infecciones, esto hace que en numerosas ocasiones el clínico se vea en la necesidad de administrar antibióticos. Los aminoglucósidos son antibióticos habitualmente empleados en el tratamiento de infecciones por bacterias gram negativas, de entre ellos los más empleados son la gentamicina y la tobramicina.

La gentamicina es un antibiótico muy nefrotóxico, pudiendo generar alteraciones morfofuncionales que pueden terminar en un fallo renal agudo. La toxicidad de la gentamicina a nivel del riñón parece relacionada con un aumento de la absorción y retención de la misma a nivel del tubo contorneado proximal de la nefrona, produciendo especies reactivas del oxígeno muy destructivas en estas células. Algunos investigadores (24, 32) comprobaron que cuando administraban conjuntamente melatonina y gentamicina disminuía la hiperproteinuria, los productos de la lipoperoxidación, la reducción en la actividad de los enzimas antioxidantes y la masiva necrosis tubular que se producía cuando administraban gentamicina sola. Además, los antibióticos aminoglucosidos son ototóxicos. López-González y su grupo (12), en el año 2000, demostraron que la administración conjunta de melatonina con los diferentes antibióticos aminoglucosidos previno la ototoxicidad de estos antibióticos sin afectar a la eficacia de los mismos y en algunos casos, incluso, aumentó su potencia.

Antinflamatorios no esteroideos AINs

Los AINs pueden provocar lesiones ulcerosas del tracto gastrointestinal por varias causas, entre ellas: una acción directa irritante sobre la mucosa, por la generación de especies reactivas de oxígeno especialmente radicales hidroxilo, por la inhibición de prostaglandinas, etc. La acción antiestrés oxidativo de la melatonina receptor dependiente o independiente hacen a esta molécula muy útil en la reducción del daño gástrico generado por los AINs (2).

Ranitidina y Omeprazol

Estos dos fármacos son muy usados en PCT como antiulcerosos por su capacidad para inhibir la secreción de clorhídrico por diferentes vías. Pero estos fármacos también poseen efectos indeseables como dolor de cabeza, vértigos, diarrea y picores en la piel. Cuando la melatonina es usada sola o en co-medificación con ranitidina u omeprazol, estos fármacos son mucho más eficaces y presentan menos efectos indeseables (2, 25).

Haloperidol

Es un antagonista del receptor de la dopamina, usado en PCT para el tratamiento de la psicosis y la agitación. Es un fármaco citotóxico dosis dependiente, sobretodo para células del hipocampo y áreas relacionadas, debido fundamentalmente a la generación de estrés oxidativo. Entre sus efectos indeseables, destacamos disquinesia tardía, la cual es una de las mayores limitaciones del uso de los neurolépticos. Los ensayos clínicos de Shamir et al 2001(33) demostraron que el uso de melatonina, 10mg/día tomada durante 6 semanas en pacientes con disquinesia tardía por haloperidol, redujo las alteraciones motoras que presentaban dichos pacientes.

Morfina y derivados

El dolor es un síntoma frecuente en PCT, por ello necesitan ser tratados con fármacos analgésicos. Melatonina por si misma tiene capacidad para combatir el dolor, pero cuando se combina con morfina o sus derivados, aumenta el efecto antinocioceptivo de estos fármacos (21). Los opiáceos analgésicos pueden también inducir inmu-

nosupresión y contribuir al desarrollo de infecciones oportunistas. Melatonina reduce la inmunosupresión de estas drogas sin disminuir su eficacia y en algunos casos, aumentando su potencia (25).

Transfusión de sangre y hierro

PCT, especialmente niños con más del 10% de superficie corporal quemada, pueden necesitar suplementos de hierro y transfusiones de sangre, sobretodo en la fase de recuperación. Esta terapia posee numerosos efectos indeseables relacionados con la formación de radicales libres. La administración de melatonina previene estos efectos indeseables (25).

CONCLUSIONES Y RELEVANCIA CLÍNICA

El trauma conlleva una gran cantidad de alteraciones locales y sistémicas que pueden conducir a la muerte de los pacientes por estrés oxidativo, sepsis y fallo multiorgánico. La melatonina es un antioxidante muy potente que ha demostrado su eficacia resincronizando los ritmos biológicos circadianos, induciendo el sueño, mejorando la respuesta defensiva y el funcionamiento mitocondrial de las células, evitando los efectos secundarios de otros fármacos que generan gran cantidad de radicales libres, etc. Hasta ahora en España se ha permitido la investigación básica con melatonina pero no su uso clínico. En los últimos meses, melatonina ya cuenta con la aprobación de la Agencia Europea del Medicamento y pronto será comercializada en las farmacias bajo prescripción médica. Con este y otros trabajos, tenemos la esperanza de que en un futuro no muy lejano la melatonina esté totalmente legalizada en España siguiendo los pasos de otros países europeos como Francia e Italia para poder mejorar el tratamiento de los PCT.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Sevilla y al grupo de investigación CTS-160 que sufragaron parcialmente este trabajo. Al Dr. Russel J. Reiter por sus consejos en relación al uso clínico de la melatonina.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Acuña-Castroviejo D, Escames G, León J et al.:** Mitochondrial regulation by melatonin and its metabolites. *Adv Exp Med Biol*, 2003; 527: 549-557.
2. **Bandyopadhyay D, Chattopadhyay A.:** Reactive oxygen species-induced gastric ulceration: protection by melatonin. *Curr Med Chem*, 2006; 13: 1187-1202.
3. **Beni SM, Kohen R, Reiter JR et al.:** Melatonin-induced neuroprotection after closed head injury is associated with increased brain antioxidants and attenuated late-phase activation of NF-kappaB and AP-1. *FASEB J*, 2004; 18: 149-151.
4. **García-Maurino S, Pozo D, Calvo JR et al.:** Correlation between nuclear melatonin receptor expression and enhanced cytokine production in human lymphocyte and monocyte cell lines. *J Pineal Res*, 2000; 29: 129-137.
5. **Gitto E, Karbownik M, Reiter RJ et al.:** Effects of melatonin treatment in septic newborns. *Pediatr Res*, 2001; 50: 756-760.
6. **Gottschlich MM, Jenkins ME, Mayes T, et al.:** The 1994 Clinical Research Award. A prospective clinical study of the polysomnographic stages of sleep after burn injury. *J Burn Care Rehabil*, 1994; 15: 486-492.
7. **Guenther AL, Schmidt SI, Laatsch H et al.:** Reactions of the melatonin metabolite AMK (N1-acetyl-5-methoxykynuramine) with reactive nitrogen species: formation of compounds, 3-acetamidomethyl-6-methoxycinnolinone and 3-nitro-AMK. *J Pineal Res*, 2005; 39: 251-260.
8. **Guerrero JM, Reiter RJ.:** Melatonin-immune system relationships. *Curr Topics Med Chem*, 2002; 2: 167-179.
9. **Horton JW.:** Free radicals and lipid peroxidation mediated injury in burn trauma: the role of antioxidant therapy. *Toxicology*, 2003; 189: 75-88.
10. **Jaffe SE, Paterson DR.:** Treating sleep problems in patients with burn injuries: practical considerations. *J. Burn Care Rehabil*, 2004; 25(3): 249-305.
11. **Kerman M, Cirak B, Ozguner MF et al.:** Does melatonin protect or treat brain damage from traumatic oxidative stress?. *Exp Brain Res*, 2005; 163: 406-410.
12. **López-González MA, Guerrero JM, Torronteras R, et al.:** Otototoxicity caused by aminoglycosides is ameliorated by melatonin without interfering with the antibiotic capacity of the drugs. *J Pineal Res*, 2000; 28: 26-33.
13. **Lotufo CM, Yamashita CE, Farsky SH, et al.:** Melatonin effect on endothelial cells reduces vascular permeability increase induced by leukotriene B4. *Eur J Pharmacol*, 534: 258-263, 2006.
14. **Maestroni GJ, Cardinali DP, Esquifino AI et al.:** Does melatonin play a disease-promoting role in rheumatoid arthritis?. *J Neuroimmunol*, 2005; 158: 106-111.
15. **Makarov A, Kiselev VN, Loboda EB.:** Cerebrospinal fluid melatonin in diseases of the nervous system. *Zh Neuropatol Psikhiatr*, 1977; 77: 1814-1816.
16. **Maldonado MD, González MF, Sánchez B, Núñez-Roldán A.:** Aumento de las moléculas de adhesión en los linfocitos de los pacientes críticos. *Inmunología*, 1990; 9: 40.
17. **Maldonado MD, Murillo-Cabezas F, Terrón MP et al.:** The potential of melatonin in reducing morbidity-mortality after craniocerebral trauma. *J Pineal Res*, 2007; 42: 1-11.
18. **Maldonado MD, Pérez-San-Gregorio MA, Reiter RJ.:** The role of melatonin in the immuno-neuropsychology of mental disorders. *Recent Patents on CNS Drug Discovery*, 2009; 4: 61-69.
19. **Maldonado MD, Venturoli A, Franco A, Núñez-Roldán A.:** Specific changes in peripheral blood lymphocyte phenotype from burn patients. Probable origin of the thermal-injury-related lymphocytopenia. *Burns*, 1991; 3: 188-192.
20. **Maldonado MD.:** Immune alterations in multiple injuries and burn patients. *Publications of the University of Seville*; 1991.
21. **Mantovani M, Kaster MP, Pertile R et al.:** Mechanism involved in the antinociception caused by melatonin in mice. *J Pineal Res*, 2006; 4: 382.
22. **Mayo JC, Sainz RM, Tan DX, et al.:** Anti-inflammatory actions of melatonin and its metabolites, N1-Acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine (AKKM) and N1-acetyl-5-methoxykynuramine (AMK), in macrophages. *J Neuroimmunol*, 2005; 165: 139-149.
23. **Moskala M, Krupa M, Goscinski I, Traczewski W.:** Circadian rhythms of melatonin of patients with severe traumatic brain injury. *Neurol Neurochir Pol*, 2004; 38(5): 401-4.
24. **Ozbek E, Turkof Y, Shna E, Ozugulo F, Mizrak B, Ozbek M.:** Melatonin administration prevent the nephrotoxicity induced by gentamicin. *BJU*, 2000; 85: 742-746.
25. **Reiter RJ, Tan DX, Sainz RM, Mayo JC, López S.:** Melatonin: reducing the toxicity and increasing the efficacy of drugs. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2002; 54: 1299-1321.
26. **Reiter RJ, Gultekin F, Manchester LC, et al.:** Light pollution, melatonin suppression and cancer growth. *J Pineal Res*, 2006; 40: 357-358.

-
27. **Reiter RJ, Tan DX, Maldonado MD.:** Melatonin as an antioxidant: physiology versus pharmacology. *J Pineal Res*, 2005; 39: 215-216.
28. **Reiter RJ, Tan DX.:** Melatonin: reducing intracellular hostilities. *Endocrinologist*, 2004; 14: 222-228.
29. **Saija A, Tomaino A, Trombetta D, et al.:** Interaction of melatonin with model membranes and possible implications in its photoprotective activity. *Eur J Pharm Biopharm* 2002; 53: 209-215.
30. **Seabra MLV, Bignotto M, Pinto LR et al.:** Randomized double-blind clinical trial, controlled with placebo, of the toxicology of chronic melatonin treatment. *J Pineal Res*, 2000; 29: 193-200.
31. **Sener G, Sehirli AO, Satiroglu H, et al.:** Melatonin improves oxidative organ damage in a rat model of thermal injury. *Burns*, 2002; 28: 419-425.
32. **Sener G, Sehirli AO, Satiroglu H, et al.:** Melatonin prevents oxidative kidney damage in a rat model of thermal injury. *Life Sci* 2002; 70: 2977-2985.
33. **Shamir E, Barak Y, Shalman I et al.:** Melatonin treatment in tardive dyskinesia: a double-blind, placebo-controlled, crossover study. *Arch Gen Psychiatr*, 2001; 58: 1049-1052.
34. **Slominski A, Wortsman J, Tobin DJ.:** The cutaneous serotonergic/melatonergic system: securing a place under the sun. *FASEB J*, 2005; 19: 176-194.
35. **Stamatovic SM, Dimitrijevic OB, Keep RF, Andjelkovic AV.:** Inflammation and brain edema: new insights into the role of chemokines and their receptors. *Acta Neurochir Suppl*, 2006; 96: 444-450.
36. **Tan DX, Reiter RJ, Manchester LC et al.:** Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger. *Curr Topics Med Chem*, 2002; 2: 181-199.
37. **Tanaka H, Matsuda T, Miyagantani Y, et al.:** Reduction of resuscitation fluid volumes in severely burned patients using ascorbic acid administration: a randomised, prospective study. *Arch Surg*; 2000; 135: 326-331.
38. **Terszowski G, Muller SM, Bleul CC, et al.:** Evidence for a functional second thymus in mice. *Science*, 2006; 312: 284-287.
39. **Tunali T, Sener G, Yarat A, et al.:** Melatonin reduces oxidative damage to skin and normalizes blood coagulation in a rat model of thermal injury. *Life Sci*, 2005; 76: 1259-1265.
40. **Ucar T, Ozkaya G, Demir N, Gurer I, Azkyuz M, Onal MZ.:** The effects of environmental light-dark changes on experimental mild traumatic brain injury. *Acta Neurol Scand*, 2005; 112: 163-72.
41. **Yildirim M, Marangoz C.:** Anticonvulsant effects of melatonin on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Brain Res*, 2006; 1099: 183-188.