

UiO : **Universitetet i Oslo**

# Melatonins effekt på orale inflammasjoner og beintilheling

Emnekode: OD5930-Masteroppgave

Kandidat: Stine Milovanovic, H16

Veileder: Trude M. Haug

Dato: 13. juni 2019- 25. april 2020



# Innholdsfortegnelse

<b>Introduksjon og bakgrunn .....</b>	<b>2</b>
<b>Materiale og metode .....</b>	<b>4</b>
<i>Liste over akronymer.....</i>	5
<b>Historisk forskning (forskningen før 2015) .....</b>	<b>7</b>
<i>Melatonin og inflammasjon .....</i>	7
<i>Melatonin både pro- og anti-inflammatorisk .....</i>	8
<i>Melatonins effekt på bein .....</i>	10
<b>Nyere forskning på melatonin og orale tilstander .....</b>	<b>12</b>
<b><i>Melatonin og periodontal sykdom .....</i></b>	<b>12</b>
<i>Melatonin som moderator av den inflammatoriske responsen ved         periodontal sykdom .....</i>	13
<i>Effekt av melatonin på alvorlighetsgraden av periodontal sykdom .....</i>	14
<i>Melatonin og komorbiditet.....</i>	16
<i>Melatonins potensielle effekt på periodontal biofilm .....</i>	16
<i>Diskusjon knyttet til periodontitt som immunmodulator .....</i>	17
<i>Melatonins effekt på bein ved periodontal sykdom.....</i>	18
<b><i>Melatonin og dentale implantater .....</i></b>	<b>20</b>
<b><i>Melatonin og endodonti .....</i></b>	<b>23</b>
<i>Melatonin til behandling av periapikale lesjoner.....</i>	23
<i>Melatonin som del av endodontisk prosedyre .....</i>	25
<b><i>Melatonin og andre inflammasjoner .....</i></b>	<b>26</b>
<b>Sikkerhet, administrasjonsmåte og dosering.....</b>	<b>27</b>
<i>Sikkerhet.....</i>	27
<i>Administrasjonsmåte .....</i>	28
<i>Dosering .....</i>	29
<b>Avsluttende ord.....</b>	<b>31</b>
<b>Konklusjon .....</b>	<b>31</b>
<b>Referanser:.....</b>	<b>32</b>

## Introduksjon og bakgrunn

Melatonin, N-acetyl-5-methoxytryptamine, er navnet på det de fleste forbinder med søvnhormonet (3). Den største produksjonen av stoffet foregår i epifysen (pinealkjertelen) på nattestid, men det har blitt rapportert at flere celletyper i kroppen, kanskje alle, inneholder og/eller syntetiserer melatonin (4). Mengden melatonin som syntetiseres av sekundære vev, slik som beinmarg, tarm, hud, blodplater og retina, er ubetydelig i systemisk sammenheng (5). En perifer melatoninproduksjon indikerer imidlertid at signalsubstansen, i tillegg til å ha en viktig systemisk effekt, også har en viktig lokal og parakrin effekt. Dette underbygges av tidligere funn som viser at melatonin har blitt identifisert i nesten alle organismer, inkludert bakterier, protister, planter og dyr (6). På grunn av at melatonin-syntese foregår i flere organer og ikke har et spesifikt målorgan eller målcelle, anses ikke melatonin å være et klassisk hormon (7).

Melatonin er veldig lipidløselig og relativt vannløselig, og man tror at stoffet har adgang til alle kroppens celler (8). De fleste av melatonins funksjoner medieres gjennom de G-proteinkoblede reseptorene melatoninreseptor 1 og 2 (MT1 og MT2) og muligens gjennom de nukleære reseptorene RZR/ROR (9). MT1- og MT2-reseptorene har blitt funnet i de fleste vev, inkludert spyttkjertler, oralt epitel, fibroblaster i mukosal lamina propria og osteoblaster i maxillært alveolært bein (10).

I motsetning til de fleste klassiske endokrine kjertler, som kontrolleres av hormoner fra andre organer, virker det som at endokrin feedback har mindre effekt på melatoninproduksjonen (11). Epifysen kontrolleres av lysmengden, hvor fotoreseptorer i retina registrerer denne og overfører informasjonen fra øyet via suprachiasmatisk kjerne til epifysen, gjennom det sympatiske nervesystemet (12). Informasjon om lys hemmer aktiviteten i epifysen og dermed melatoninproduksjonen, mens fravær av stimulus fører til melatoninproduksjon. Dette gjør at vi får døgnvariasjoner i nivået av melatonin i blodet. Melatonin sender informasjon om årstid og tid på døgnet til andre systemer i kroppen (13). Pinealocytterne, epifysens celler, tar opp fritt tryptofan fra blodet og omgjør det ved hjelp av en rekke metabolske prosesser til serotonin (14). I fravær av lysstimulus omgjøres serotonin til melatonin. En liknende melatonin-rytme som i blodet finner vi også i saliva (15). I blodet er 70 % av melatoninen

bundet til plasmaproteinet albumin (16). Det er bare den frie andelen som kan skilles ut av spyttkjertlene (17). Utskillelsen skjer trolig ved hjelp av passiv diffusjon, grunnet melatonins lipofile evne, men melatonin kan muligens også syntetiseres av spyttkjertelvev (17, 18).

I Norge har melatonintabletter lenge vært ansett som et legemiddel, men i dag selges 1 mg melatonintabletter reseptfritt på apotek. Melatonin brukes hovedsakelig for å kurere søvnproblemer og aldringseffekter, men anvendelsen av melatonin begynner i dag også å strekke seg inn i nye fagområder som blant annet onkologi, fruktbarhet, gastroenterologi, kardiologi og immunologi (19-23).

Denne oppgaven vil ta for seg odontologisk bruk av melatonin for å lindre, motarbeide og kurere orale inflammasjoner og fremme beintilhelingen i forbindelse med periodontal- og endodontisk sykdom i tillegg til ved innsetting av implantater. Det vil bli tatt i bruk digitale databaser for innhenting av informasjon. Først vil det redegjøres for tidligere forskning (før 2015), før disse funnene vil tolkes i lys av nyere forskning; altså den forskningen som har funnet sted i perioden 2015-2020. Tidligere er det hevdet at melatonin reduserer oksidativt stress, modulerer immunresponser og påvirker beinmetabolismen (10). Oppgaven vil forsøke å se hvorvidt nyere forskning samsvarer med eldre forskning på området, i et forsøk på å oppsummere funnene til dags dato. Oppgaven vil videre undersøke hvorvidt det foreligger vitenskapelig evidens for bruk av melatonin i forbindelse med orale inflammasjoner og beintilheling. Til slutt vil oppgaven se på tryggheten ved potensiell bruk av melatonin i terapeutisk og profylaktisk sammenheng.

Opgaven finner at melatonin har et interessant potensial innenfor odontologisk praksis, men det kreves mer klinisk forskning av høy kvalitet før melatonin kan tas i bruk.

# Materiale og metode

I denne oppgaven ble PubMed (*database of the U.S National Library of Medicine*) og Google Scholar brukt som hovedkilder for innhenting av informasjon. I begge databaser ble det gjort systematiske søk på:

- Melatonin «adverse effects»
- Melatonin apical periodontitis
- Melatonin bone
- Melatonin endodontics
- Melatonin gingivitis
- Melatonin inflammation
- Melatonin implants
- Melatonin oral cavity
- Melatonin oral health
- Melatonin oral infections
- Melatonin periodontal disease
- Melatonin periodontitis
- Melatonin safety

I PubMed ble alle disse søkene, etter et generelt søk uten filter, kombinert med filteret «nyeste på 5 år», med unntak av søkene:

- Melatonin «adverse effects»
- Melatonin safety

Oversiktsartikler til «Historisk forskning» ble valgt ut ved å søke i Google Scholar på:

- Melatonin inflammation
- Melatonin immune system
- Melatonin oral diseases

Artiklene ble evaluert etter relevans i tittel og sammendrag. Artiklene måtte være fagfelleurdert for å bli vurdert. Dette ble sjekket ved å søke på hver artikkel i Bibsys.

I tillegg ble lærebøkene «Marsh and Martin's Oral Microbiology» 6. utgave, «Textbook of Endodontology» 2. utgave og «Clinical Periodontology and Implant Dentistry» 6. utgave benyttet til innhenting av generell informasjon innenfor fagfeltet.

Under «Historisk forskning» ble oversiktsartiklene nevnt under brukt som utgangspunkt:

- «A Review of the Multiple Actions of Melatonin on the Immune System» publisert i 2005 av Carillo-Vico et al. (13).
- «Melatonin: a pleiotropic molecule regulating inflammation» publisert i 2010 av Radogna et al. (24).
- «Melatonin: Buffering the immune system» publisert i 2013 av Carillo-Vico et al. (23).
- «Melatonin effects on bone: experimental facts and clinical perspectives» publisert i 2003 av Cardinali et al. (25).

Søkene ble gjennomført fra perioden 13. juni 2019- 11. april 2020.

### *Liste over akronymer*

- BOP: Blødning ved lommedybdemåling
- CAL: Klinisk festetap
- COX: Syklooksxygenase
- EDTA: Ethylene Diamine-Tetra-acetic Acid
- FR: Frie radikaler
- HMT: Host modulatory therapy
- IL: Interleukin
- INOS: Induserbar nitrogenoksid syntase
- LPS: Lipopolysakkarid
- MMPs: Matriksmetalloproteinaser
- MyD88: Myeloid differensieringsfaktor 88
- NaOCl: Natriumhypokloritt
- NF- $\kappa$ B: Nukleær faktor- $\kappa$ B
- OPG: Osteoprotegerin
- PAMPs: patogenassosierte molekylære mønstre

- PDL: Periodontalligament
- PGE2: Prostaglandin E2
- PMNs: Polymorfonukleære leukocytter
- RANK: Reseptor aktivator av nukleær faktor- $\kappa$ B
- RANKL: Reseptor aktivator av nukleær faktor- $\kappa$ B ligand
- ROS: Reaktive oksygenradikaler
- Th-celler: T-hjelpeceller
- TLR: Toll-like reseptor
- TNF-alfa: Tumor nekrose faktor alfa

## Historisk forskning (forskningen før 2015)

Den orale helsen er sterkt knyttet til den generelle helsen og omvendt (26). En god oral helse er av stor betydning for kommunikasjon, utseende og evnen og gleden til å innta mat og drikke. Opprettholdelse av en god oral helse er derfor essensielt for en persons selvfølelse og velvære. Munnen er et av nøkkelkontaktpunktene mellom kroppen og omverdenen og kan være inngangsport for mikrobielle patogener. Dessuten består vår egen orale normalflora av mer enn 700 forskjellige mikroorganismer, der mange av disse har mulighet til å forårsake opportunistiske infeksjoner (26, 27). Selv om inflammasjon er en essensiell respons på vevsskade og nødvendig for å gjenopprette homeostase, kan inflammasjonsprosessen i noen tilfeller komme ut av kontroll og bli en selvforsterkende tilstand som fører til ytterligere vevsskade (24). Å ha et effektivt og ufarlig middel som begrenser en slik prosess vil være ønskelig innenfor odontologiske tilstander som blant annet periodontitt, perikoronitt, endodontiske infeksjoner, alveolitter og liknende. Forskningen frem til 2015, som presenteres nedenfor, viser at melatonin har et interessant potensial som inflammasjonsregulator og beinmodulator.

### *Melatonin og inflammasjon*

Det hevdes at det første beviset på en interaksjon mellom epifysen og immunsystemet kom i 1926 da Berman matet 2 kattunger med okseepifyser i 2 år (13). Berman hevdet at dette ga kattungene økt aktivitet, størrelse, læringsevne og motstand mot infeksjoner. Stoffet melatonin ble imidlertid ikke oppdaget før i 1958 (28). Siden den gang har det blitt forsket mye på melatonins effekter på immunsystemet. Både melatonins systemiske effekter og autokrine/parakrine effekter har blitt undersøkt. I tillegg har man sett på effekter av melatonin gjennom eksogen administrering. De systemiske effektene av melatonin kan trolig best studeres gjennom å utføre kirurgisk eller kjemisk pinealektomi (epifysefjerning) eller ved å utsette forsøksdyr for en økt eller redusert mengde lys i forhold til normalen (13). Når det gjelder de autokrine/parakrine effektene av melatonin er det vist at en rekke leukocytter og immunologiske vev inneholder det enzymatiske maskineriet som trengs for å syntetisere melatonin (29-32). Denne produksjonen kan bidra som regulator i leukocyt-kommunikasjonen uavhengig av epifysen, da mange organer og immunceller i tillegg har



melatoninreseptorer (23). Dessverre er det lite kunnskap rundt hva slags effekt denne autokrine/parakrine melatoninproduksjonen faktisk har.

### *Melatonin både pro- og anti-inflammatorisk*

Melatonin har vist seg å kunne være et tveegget sverd og ha både pro- og anti-inflammatoriske effekter (23, 24). Melatonin har i forsøk vist å både kunne oppregulere og nedregulere inflammatoriske responser, og på den måten virke immunmodulerende.

### *Pro-inflammatoriske effekter*

Når det gjelder melatonins pro-inflammatoriske effekter er det flere indikasjoner på at melatonin trolig modulerer flere av de cellulære komponentene i den medfødte immunresponsen. Melatonintilførsel har vist å kunne øke antallet makrofager, NK-celler og monocytter, i tillegg til å kunne øke aktiviteten deres (33-37). For eksempel så har en studie vist at makrofager i milten får en økt antigenpresentasjon for T-celler grunnet et økt uttrykk av MHC klasse 2 og produksjon av interleukin 1 (IL-1) og tumor nekrose faktor alfa (TNF-alfa) (37). Melatonin er også vist å kunne ha en «booster»-effekt på kjemotakse (36, 38). Når det gjelder den adaptive immunresponsen har melatonin også vist seg å kunne ha en positiv effekt på enkelte av de cellulære responsene. Lymfocytter har reseptorer for en rekke hormoner og neuropeptider, og man tror dette også gjelder for melatonin (39-41). Melatonin har vist seg å kunne ha effekter på T-hjelpeceller (Th-celler) (23), som regulerer aktiviteten til flere andre immunceller. Mens Th1-lymfocytter har en cytokinprofil som hovedsakelig fører til en fagocyttafhengig inflammasjon, så produserer Th2-celler cytokiner som kan fremkalle en sterk antistoffrespons, favorisere differensiering og aktivering av eosinofile granulocytter og hemme flere av funksjonene til fagocytterne - dermed føre til en slags fagocyttauhengig inflammasjon (42). Studier har vist at melatonin både kan fremme en Th1- og en Th2-respons ved å øke cytokinene IL-2, IL-4, IL-6 og IFN-gamma (43-46).

## *Anti-inflammatoriske effekter*

### *Nedregulering av proinflammatoriske cytokiner*

Når det gjelder melatonins antiinflammatoriske effekter har melatonin vist seg å hemme produksjonen av de inflammatoriske cytokinene TNF-alfa, IL-1 $\beta$ , IL-6 og IL-8 (47, 48). Dette skjer trolig ved å hindre translokeringen og DNA-bindingen av den proinflammatoriske transkripsjonsfaktoren nukleær faktor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B).

### *Melatonin og syklooksigenase*

Syklooksigenase (COX) et enzym som inngår i veien hvor arakidonsyre omdannes til prostaglandiner og tromboxan A2 (49). Det finnes flere isoformer av enzymet. COX-1 anses som et vedlikeholdsenzym og finnes i stort sett alle celletyper, mens COX-2 blant annet er et inflammatorisk enzym og oppreguleres i celler ved inflammasjon. Melatonin har i enkelte studier også vist å kunne nedregulere uttrykket av COX-2 og på denne måten virke antiinflammatorisk (50-52).

### *Melatonin som antioksidant*

Forskningen viser at melatonin tilsynelatende kan fungere som en bredspektret antioksidant med evne til å ufarliggjøre mange ulike frie radikaler (53). Frie oksygenradikaler genereres hele tiden i cellene til aerobe organismer i forbindelse med metabolisme og som en del av immunforsvaret vårt (54). Frie radikaler har ett eller flere uparede elektroner i sin ytre orbital og dette gir radikalene en økt reaktivitet. Reaktive oksygenradikaler (ROS) er en viktig del av immunresponsen ved blant annet å bidra til å drepe mikrober, virke kjemotaktisk, indusere monocytt-modning og ved å aktivere intracellulære inflammasjonsveier som fører til frigjøring av inflammatoriske mediatorer (24). Oppnår man imidlertid ikke vevstilheling etter en viss tid, kan man ende opp i en ond sirkel av vevsskade. I vev vil det nemlig alltid være en balanse mellom ROS-produksjon og antioksidantforsvaret (55). Oksidativt stress forekommer når denne balansen tipper. Oksidativt stress spiller en utløsende- eller tilleggsrolle i nesten alle menneskelige patologier, da det har en direkte toksisk effekt på cellene som fører til lipid peroksidering, oksidasjon av proteiner og DNA-skade (56-58). Melatonin kan i seg selv fungere som en sterk antioksidant i tillegg til trolig å kunne aktivere andre antioksidantzymer som superoxid dismutase, glutation peroksidase og glutation reduktase (59-64). Også melatonins

metabolitter er vist å kunne ha antioksidantegenskaper (65). Melatonin hemmer også aktiviteten til induserbar nitrogenoksid syntase (iNOS) som danner NO-radikalet ved inflammasjon (47, 51).

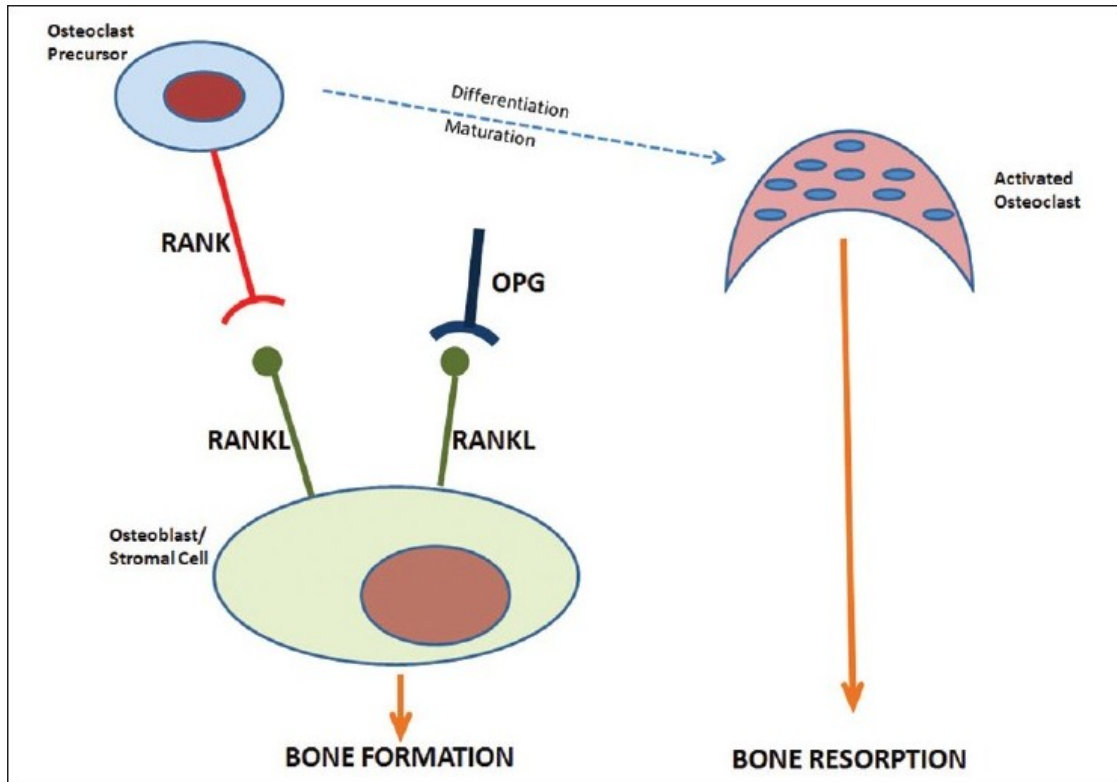
De påviste effektene av melatonin har vist seg å være tildels motstridende i forskningen. Enkelte studier har fremsatt en hypotese om at melatoning kan virke immunstimulerende i den tidlige inflammasjonsfasen og antiinflammatorisk når inflammasjonsprosessen går mot et mer kronisk forløp (23, 24). Denne hypotesen er ikke bekreftet, og trolig er de antiinflammatoriske effektene av melatonin større enn de pro-inflammatoriske.

### *Melatonins effekt på bein*

Opprettholdelse av alveolarbein er veldig viktig i odontologisk praksis fordi alveolarbeinet fungerer som støttevev for både tennene og eventuelle tannerstatninger. Bein er et dynamisk vev med god remodeleringsevne (66). Remodeleringen avhenger av belastning, hormonelle forhold, livsstilsfaktorer, ernæring og inflammasjon (66, 67).

Når det gjelder melatonins effekter på bein er det foreslått at melatonin gjennom flere mekanismer kan påvirke beinets fysiologi og virke beinprotektivt. Beinmargen er et spongiøst vev som både er involvert i dannelsen av mesenchymale celler, som osteoblaster og osteoklaster, blodceller som erytrocytter og blodplater og immunceller fra både myeloid og lymfoid cellelinje (68). Flere studier indikerer at melatonin har en viktig rolle i beinmargen - beinmargen har trolig sin egen ekstrapineale melatoninproduksjon og melatoninkonsentrasjonen er betydelig høyere i beinmargen enn både i epifysen og serum (69, 70). I tillegg til å kunne beskytte mot oksidativt stress og ha en effekt på immuncellene, som nevnt over, har melatonin vist seg å kunne påvirke både osteoblaster og osteoklaster. Ved tilstedeværelse av melatonin har både in vitro og in vivo studier vist at pre-osteoblaster differensierer seg raskere til osteoblaster og at melatonin økte genekspressjonen av bein-sialoprotein og andre proteiner som alkalisk fosfatase, osteopontin og osteokalsin (71, 72). Studier har også vist at melatonin kanskje kan påvirke kollagen type 1 syntese i osteoblaster, og dermed øke beinmassen (71, 73). Når det gjelder melatonins effekt på osteoklaster kan melatonin ved farmakologiske doser hemme beinresorpsjon ved å nedregulere reseptor

aktivator av nukleær faktor- $\kappa$ B ligand (RANKL) mRNA og øke beinmassen ved å øke både mRNA og proteinnivåene av osteoprotegerin (OPG) (74). RANKL er et protein som binder seg til reseptor aktivator av nukleær faktor- $\kappa$ B (RANK) på osteoklast-forløpere og trigger differensiering til osteoklaster som bryter ned bein (75). OPG er et protein som derimot hemmer osteoklastdifferensiering (76). Dette er illustrert i figur 1. En studie viste også at melatonin muligens kan fremme angiogenese ved reparasjon av beindefekter (77).



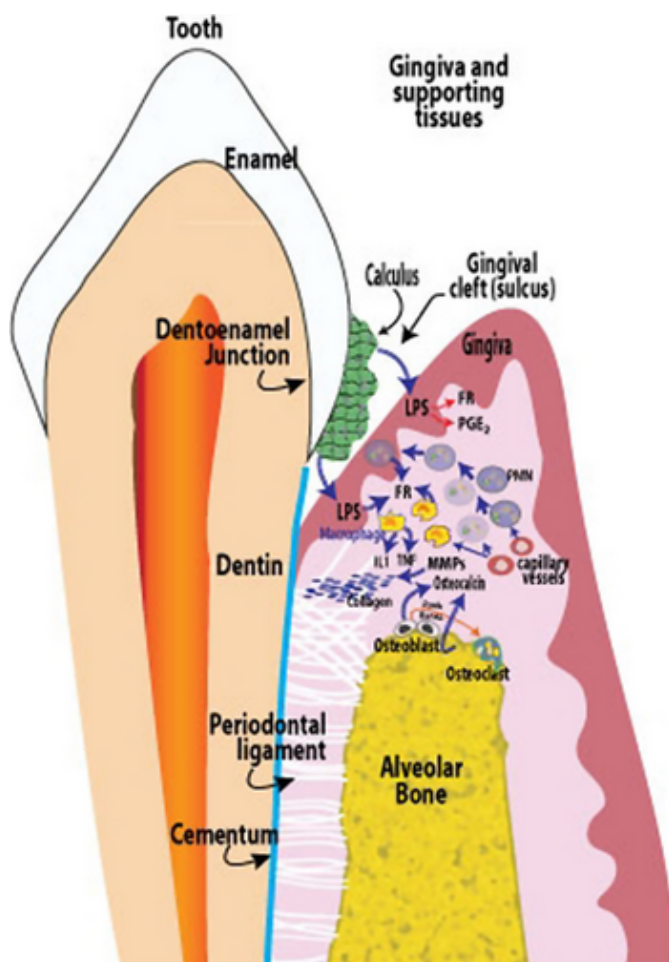
Figur 1: Interaksjon mellom RANKL-RANK/OPG biomolekylært kompleks (1).

## Nyere forskning på melatonin og orale tilstander

Dersom melatonin har alle effektene som beskrevet over vil dette innebære et stort potensial for bruk innenfor det odontologiske fagfeltet, da mange av tilstandene som behandles er knyttet til inflammasjon og beinpatologi.

### **Melatonin og periodontal sykdom**

Periodontitt er en multifaktoriell sykdom forårsaket av en destruktiv interaksjon mellom vertens immunforsvar, en dysbiotisk subgingival mikrobiota og modifierende miljøfaktorer (78). Sykdommen er inflammatorisk og reduserer tannens feste ved å påvirke alveolarbeinet, tannkjøttet og periodontalligamentet (79). Destruksjonen av de tannstøttende vevene er i stor grad forårsaket av frigjøring av pro-inflammatoriske cytokiner (IL-1 $\beta$ , TNF-alfa og IL-6), prostaglandiner (PGE<sub>2</sub>), frie radikaler og reaktive oksygenarter (78, 80). Mekanismen er illustrert i figur 2, som inkluderer alle de inflammatoriske mediatoene med unntak av IL-6.



Figur 2: Mekanisme for gingivitt, periodontitt og alveolært beintap (2)

Bildet illustrerer hvordan Gram-negative bakterier i tannstein frigir lipopolysakkarid (LPS). Dette fører til en produksjon av cytokiner, som interleukin 1 (IL-1) og tumor nekrose faktor alfa (TNF-alfa), i tillegg til dannelse av frie radikaler (FR) som fører til oksidativt stress. Matriksmetalloproteinaser (MMPs) stimuleres av det oksidative stresset. Dette fører til en nedbrytning av kollagen og periodontalligamentet (PDL). Polymorfonukleære leukocytter (PMNs) ankommer det inflammatoriske området gjennom blodårer, og sammen med makrofager dannes det flere frie radikaler som destruerer vevet. Osteoklastenes aktivitet stimuleres som følge av inflammasjonen og alveolærbein brytes ned. Nedbrytningen av PDL og beintap fører til løsning av tanna og potensielt tanntap.

Grunnet melatonins immunomodulatoriske, anti-inflammatoriske og beinbeskyttende funksjon har stoffet blitt testet ut som et potensielt beskyttende supplement ved periodontal sykdom, som oppgaven kommer tilbake til nedenfor. Den konvensjonelle periodontale behandling med depurasjon er i dag så god at det aldri vil være aktuelt å erstatte denne til fordel for bruk av melatonin. Melatonin vil i denne sammenhengen heller bli brukt som et tilleggsspreparat eller som et preparat i forebyggende behandling. «Host modulatory therapy» (HMT) er et konsept for behandling av destruktive periodontale sykdommer, hvor man forsøker å dempe den destruktive immunresponsen og fremme kroppens regenerative evne (81). Dette ved bruk av medikamentell behandling som en tilleggsbehandling til konvensjonell periodontal behandling (depurasjon og rotplanering) (82). Tidligere har man forsøkt med en rekke stoffer, men problemet har vært å finne et stoff som ved bruk over lang tid ikke gir uønskede effekter. Melatonin kan trolig fungere som en slik tilleggsbehandling dersom effekten viser seg å være god, da melatonin er ansett å være et trygt stoff med få kjente bivirkninger (83).

Tar man utgangspunkt i de eldre celle- og dyrestudiene framlagt under «Historisk forskning» kan melatonin fremstå som en vidunderkur mot periodontitt - både gjennom evnen til å redusere en inflammatorisk respons når den går over til å bli kronisk, og ved stoffets antioksidantegenskaper. Flere nyere studier, som presenteres under, underbygger denne tanken om melatonin som et mulig effektivt middel for å forbedre den periodontale statusen.

### *Melatonin som moderator av den inflammatoriske responsen ved periodontal sykdom*

El-Sharkawy et al. (81) viste i sin studie at 10 mg melatonin gitt peroralt på kveldstid til pasienter med generalisert periodontitt og primær insomni ga en signifikant forbedring av klinisk festetap og lommedybder sammenliknet med placebo etter 3 og 6 måneder. Studien viste imidlertid ingen endring i gingivalindeksen, plakkindeksen eller BOP (et tegn på periodontal inflammasjon). I denne pasientgruppen førte melatonin derimot til at forsøkspersonene sov bedre på natta og hadde en signifikant lavere konsentrasjon av TNF-alfa. At melatonin kan ha en effekt på markører for periodontal sykdom har også Montero et al. (84) funnet i sin studie. Forsøksgruppen behandlet pasienter med periodontitt og

diabetes topikalt med 1% melatoninkrem i 20 dager. Behandlingen ga en forbedret gingivalindeks og forbedring i lommedybder. I tillegg fant gruppen en signifikant reduksjon i konsentrasjonen av de pro-inflammatoriske mediatorene IL-1 $\beta$ , IL-6 og prostaglandin E2 (PGE2) i gingivalvæsken.

Det er vist at pasienter med periodontitt har generelt høyere serumnivåer av TNF-alfa, IL-6 og CRP enn friske mennesker (79). Ut fra studien til Bazayar et al. (85) kom det frem at peroral administrering av 6 mg melatonin på kveldstid i 8 uker ga en nedgang i cytokinet IL-6 og betennelsesmarkøren CRP i serum. I studien fant man i tillegg en signifikant nedgang i lommedybder (PD) og klinisk festetap (CAL) sammenliknet med kontrollgruppen, men ingen nedgang i BOP eller serumnivået av TNF-alfa. I Cutando et al. (79) sin studie hvor 1% melatoninkrem ble applisert på festet gingiva hver kveld i 20 dager fant man heller ingen signifikant nedgang i TNF-alfa. Nedgangen i IL-6 og CRP var derimot signifikant, slik som i Bazayar et al. (85) sin studie.

Fra disse studiene fremgår det at melatonin kan ha en positiv effekt på noen av de kliniske og inflammatoriske parameterne ved periodontal sykdom. Man kan imidlertid spekulere i hvorfor gingivalindeks, plakkindeks og BOP i enkelte av studiene ikke virkes å være påvirket av melatoninadministrering dersom melatonin har en så potent anti-inflammatorisk- og anti-oksidativ virkning som det hevdes. Trolig er svaret at gjennomføring av konvensjonell periodontal behandling med strikt hygieneinstruksjon maskerer over den potensielle effekten melatonin ville hatt alene, uten konvensjonell periodontal behandling og hygieneinstruksjon. Studien til Cutando et al. (79) bekrefter denne tanken. I studien undersøkte de effekten av melatoninadministrering uten konvensjonell periodontal behandling og fant at melatonin i seg selv både reduserte gingivalindeksen og lommedybdene i tillegg til cytokinene nevnt over. I studien fant han dessuten en korrelasjon mellom cytokinene TNF-alfa, IL-6 og CRP og gingivalindeksen og lommedybdene før og etter behandling.

### *Effekt av melatonin på alvorlighetsgraden av periodontal sykdom*

Pasientgruppen med periodontitt er ganske heterogen med tanke på alvorlighetsgraden av sykdommen. Hvorvidt melatonin er potensielt hensiktsmessig å bruke i alle stadier av

sykdommen kan være aktuelt å diskutere. Mens studien til Bazyar et al. (85) tok for seg pasienter med mild til moderat periodontitt, så hadde flesteparten av pasientene i studien til Cutando et al. (79) alvorlig periodontitt. I begge studiene fikk forsøkspersonene god effekt av melatoninsupplement på de parameterne som ble undersøkt. I studien til Cutando et al. hadde forsøkspersonene riktignok også diabetes, noe som kan ha påvirket resultatet. Likevel kan disse 2 studiene antyde at melatonin kan brukes både på de mildere og mer alvorlige formene av periodontitt.

I en studie av Tinto et al. (78) ga man 1 mg melatoninkapsler før sengetid i 1 måned til pasienter med stadium 3 periodontitt etter ikke-kirurgisk periodontal behandling. For lommene under 4 mm var det etter 6 måneder ingen forskjell i lommedybder mellom placebogruppen og melatoningruppen. En signifikant forskjell var det derimot når lommene kom over 4 mm. Denne studien indikerer dermed at melatoninbruk i forbindelse med forebygging av utvikling av periodontal sykdom vil ha liten effekt, men at melatonin til terapeutisk bruk vil være gunstig. Studien til Renn et al. (86) viser derimot at melatonin også har en gevinst når det brukes profylaktisk. Denne studien ble, i motsetning til Tinto et al. sin studie, utført på rotter. Man kan dermed tenke seg at funnene ikke helt samsvarer med funnene man ville fått på mennesker. En annen svakhet ved studien til Renn et al. er at de ga samtlige deltakere i de eksperimentelle gruppene melatonin i etterkant av induksjonen av periodontal sykdom. Dersom man virkelig skulle undersøkt den rene effekten av melatonin profylaktisk, burde man kun administrert melatonin i forkant av induksjonen av den periodontale sykdommen i de profylaktiske gruppene, og ikke også i etterkant.

Til tross for at melatonin muligens kan brukes i alle stadier av en etablert periodontal sykdom, indikerer studien til Ghallab et al. (87) at det vil være et større behov for melatonin hos pasientene med en alvorlig periodontitt, da denne gruppen har et veldig redusert antioksidantforsvar. Gruppen med den mest alvorlige formen for periodontal sykdom hadde den laveste konsentrasjonen av melatonin og antioksidantenzymet superoksid dismutase i gingivalvæsken. Videre hadde gruppen med alvorlig periodontitt høyere nivåer av malondialdehyd, som er en biomarkør for oksidativ vevsskade. Den lave konsentrasjonen av melatonin kan skyldes et økt forbruk av melatonin, og i et slikt tilfelle vil eksogen tilførsel av melatonin være gunstig.



## *Melatonin og komorbiditet*

Periodontitt er i stor grad knyttet sammen med andre inflammatoriske tilstander som diabetes og fedme. Studien til Virto et al. (88) undersøkte bruken av melatonin på rotter med både fedme og periodontitt. I studien fant forsøksgruppen at beintapet ble mest redusert i fedme-periodontitt-melatoningruppen, sammenliknet med normalvekt-periodontitt-melatoningruppen. Resultatene fra denne studien kan indikere at melatoninsupplement har størst effekt ved komorbiditet. Det samme kommer frem i en annen av Vitro et al. sine studier (89). Komorbiditet reduserer plasma-melatoninkonsentrasjonen, og dermed antioksidantforsvaret ytterligere i forhold til periodontitt alene. I studien fant de dessuten at det var en direkte negativ korrelasjon mellom melatoninkonsentrasjon og lommedybder. Dette kan bety at man kan forvente at komorbide pasienter (diabetes og fedme) har en mer alvorlig periodontal sykdom enn ikke-komorbide pasienter (90, 91). Dette kommer også fram i Balci Yuce et al. sin studie (92). Her hadde rottene med både periodontitt og diabetes det største alveolære beintapet sammenliknet med gruppene som kun hadde periodontitt eller kun diabetes. Man kan i en slik situasjon tenke seg at disse komorbide pasientene vil kunne ha en særlig stor effekt av melatonin dersom melatoninsupplement skal tas i bruk, og at melatonin med sin anti-inflammatoriske evne både virker direkte modulerende på den periodontale sykdommen og på tilleggstilstanden i seg selv. Ved å modulere 2 prosesser som opprettholder den periodontale sykdommen gir dette en økt effekt sammenliknet med periodontitt alene.

## *Melatonins potensielle effekt på periodontal biofilm*

Det kan også tenkes at melatonin kan ha en ekstra virkningsmekanisme, og påvirke periopatogenene. Sett på denne måten vil melatonin også kunne tenkes å ha en positiv effekt på den periodontale sykdommen. I studien til Zhou et al. (93) ble det funnet at melatonin hadde en inhibitorisk effekt på biofilmer av periopatogenen *Porphyromonas gingivalis*. Det skal sies at en periodontal biofilm består av et samfunn av mikroorganismer og ikke bare *Porphyromonas gingivalis* alene. Melatonin vil muligens ikke ha samme effekt på *Porphyromonas gingivalis* i en kompleks biofilm som alene. Kanskje kan det uansett tenkes at melatonin kan påvirke andre patogener som inngår i en biofilm assosiert med periodontal sykdom. En eldre studie utført av Tekbas et al. (94) viste nemlig at melatonin også kan påvirke andre

bakteriearter, som *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* og *Pseudomonas aeruginosa*. Studien til El-Sharkawy et al. (81) viste riktignok at melatoninadministrering ikke ga noen endring i plakkindeksen, men som diskutert over kan dette skyldes at konvensjonell periodontal behandling med strikt hygieneinstruksjon maskerer over resultatene.

### *Diskusjon knyttet til periodontitt som immunmodulator*

Alle funnene nevnt over underbygger at melatonin kan ha en immunomodulatorisk effekt ved periodontal sykdom. Imidlertid må det presiseres at en feilkilde er at studier ofte finner det de ønsker å finne. Man kan i flere av disse studiene, blant annet studien til El-Sharkawy et al. (81) stille seg spørsmålet om hvorvidt det er melatonins direkte effekt som immunmodulator og antioksidant som er årsaken til den periodontale forbedringen, eller om det er melatonins evne til å lette innsovning og forbedre søvnkvaliteten som i stor grad spiller inn (12). Cellestudier og dyrestudier, som nevnt under «Historisk forskning», har foreslått at melatonin kan ha en effekt på immunsystemet og antioksidantforsvaret. Studiene hvor melatonin administreres topikalt og ikke systemisk, underbygger også dette (79, 84). Likevel kan man ikke utelukke at noe av effekten skyldes melatonins evne til å bedre søvnkvaliteten. Studier har nemlig vist at søvnkvalitet og inflammasjon trolig henger sammen, og at man har et høyere nivå av inflammatoriske mediatorer som IL-6, TNF-alfa og CRP ved dårlig søvn (95, 96). Selv om topikal administrering vil dempe den systemiske responsen av melatonin, er det ikke til å unngå at noe av melatoninen som administreres topikalt svelges. Tidligere forskning viser dessuten at melatonin har evne til å trenge gjennom barrierer og dermed muligens overføres til systemisk sirkulasjon (97).

Studier har vist at nivået av melatonin i serum og gingivalvæsken er lavere ved inflammatoriske tilstander som akutt pulpitt og periodontitt (86, 87, 98). Dette kan indikere at melatonin faktisk forbrukes i den inflammatoriske prosessen. Dersom man snur på det, kan det imidlertid tenkes at mennesker med lav melatoninproduksjon, som følge av bakenforliggende årsaker, er mer utsatt for inflammasjoner som for eksempel periodontal sykdom, og at dette kan forklare de lave melatonin-nivåene i denne pasientgruppen. Det kan også tenkes at inflammasjon i seg selv senker melatoninproduksjonen. Det har nemlig blitt vist at administrasjon av rekombinant IL-1 $\beta$  hemmet serum melatonin-nivåene i rotter og at

en økning i TNF-alfa etter keisersnitt resulterte i et lavere serum-melatoninnivå (23). Disse studiene så på den systemiske melatoninproduksjonen. Hvorvidt dette også gjelder for den autokrine/parakrine melatoninproduksjonen, er trolig ikke kjent.

Som nevnt under «Historisk forskning» kan nedreguleringen av de pro-inflammatoriske cytokinene antagelig skyldes en blokkering av NF- $\kappa$ B-signaleringsveien. Nedgang i PGE2 observert i studien til Montero et al. (84) kan muligens skyldes melatonins evne til å nedregulere COX-2. I tillegg kan melatonins evne til å moderere den kroniske inflammatoriske responsen gjennom påvirkning av cellulære mekanismer (cellene og deres mediatorer) og direkte som antioksidant være årsaken til forbedring i lommedybder og gingivalindeks. At melatonin på en eller annen måte kan påvirke vårt humane immunforsvar er sannsynlig.

### *Melatonins effekt på bein ved periodontal sykdom*

Når det gjelder melatonins evne til å påvirke regenerasjon av bein, er det gjennomført flere forsøk de siste 5 årene som bekrefter melatonins positive effekt på beinvev. Arabaci et al. (99) fant i sin studie at melatoninbruk sammen med periodontitt hos rotter ga redusert alveolær beinresorpsjon, redusert klinisk festetap, redusert nedbrytning av periodontalligament og redusert serumnivå av kollagen type 1. Sistnevnte er en indikator for redusert beinnedbrytning. Serumnivået av alkalisk fosfatase, som er en indikator for osteoblastaktivitet, var dessuten lavere hos dem med periodontitt, men ble signifikant høyere når det samtidig ble administrert melatonin.

Ved en inflammatorisk prosess, slik som periodontitt, uttrykkes en økt mengde RANKL på osteoblaster, stroma-celler og aktiverte B- og T-celler (100). En forstyrret RANKL/OPG-balanse, som følge av en økt produksjon av pro-inflammatoriske cytokiner, spiller en viktig rolle i patogenesen av periodontal sykdom (101). Studien til Arabaci et al. (99) viser et signifikant lavere RANKL-uttrykk og nedgang i osteoklastaktivitet i gruppen som tok melatonin. Myeloperoksidase-produksjonen, en markør for polymorfonukleær celleaktivitet og inflammasjon ved periodontitt, var også lavere i melatoningruppen. Studien til Balci Yuse et al. (92) fant at melatoninadministrering førte til et redusert antall osteoklaster og underbygger ytterligere tanken om melatonin som et regenerativt stoff.

Studien til Renn et al. (86) fant ved bruk av rotter at profylaktisk melatoninadministrasjon ved periodontal sykdom normaliserte RANKL/OPG-ratioen, osteoblast/osteoklast-ratioen og senket nivåene av de pro-inflammatoriske cytokinene IL-1 $\beta$ , IL-6 og TNF-alfa. Musene ble delt i grupper hvor ulike grupper fikk melatoninsupplement i dosene 10 mg/kg, 50 mg/kg og 100 mg/kg. Man fant en forbedring av parameterne i alle gruppene, men forbedringen var størst i 100 mg/kg-gruppen. Melatoninbehandling ga dessuten et tykkere og tettere trabekulært nettverk, og gjenopprettet det alveolære kalsiumnivået som forsterker det strukturelle rammeverket. I studien fant forskergruppen at melatonin svekket den inflammatoriske toll-like reseptor 4/ myeloid differensieringsfaktor 88- signaliseringen (TLR4/MyD88-signaliseringen). Det ble konkludert med at melatonins hemmende effekter på RANKL/OPG-ratioen og på cytokin-nivåene skyldtes denne svekkede signaliseringen som nedstrøms trolig førte til nedregulering av NF- $\kappa$ B- og ERK-signalveiene. Toll-like reseptorer (TLRs) finner man blant annet på dendrittiske celler, polymorfonukleære leukocytter (PMNs) og makrofager (101). Disse gjenkjenner patogenassosierte molekylære mønstre (PAMPs) i vevet og setter igang en inflammatorisk respons. Når det gjelder ulike TLRs så er TLR4 og TLR2 særlig aktuelle for vertsresponsen ved periodontal sykdom, hvor TLR4 knyttes til en Th1-respons og TLR2 til en Th2-respons. Det har lenge vært diskusjoner i forhold til om skaden man ser ved periodontal sykdom er knyttet til en Th1- eller Th2-respons.

Melatonin viser på bakgrunn av studiene nevnt ovenfor utelukkende positive effekter på bein ved periodontal sykdom. Videre blir spørsmålet i hvilken grad funnene vist på rotter er overførbare til mennesker.

### *Diskusjon knyttet til periodontitts effekt på bein*

Man er i dag enig om at periodontitt hos mennesker er assosiert med en dreining mot en Th2-respons, og nyere forskning peker også i retning av at Th-17 kan ha en essensiell rolle (101). Man kan dermed stille seg spørsmål om hvorvidt nedgangen i TLR4/MyD88- signaliseringen, knyttet til en Th1-respons, som Renn et al. (86) fant, i det hele tatt er aktuell for mennesker. Det skal sies at forskergruppen observerte en økning i aktiveringen av TLR4 og MyD88 hos rottene med periodontitt, men dette trenger nødvendigvis ikke å være en viktig signalvei ved periodontitt hos mennesker. En annen utfordring når det gjelder dyrestudier innenfor

periodontien, er at det ofte benyttes en ligatur for å indusere periodontitt. Prosedyren går ut på at man plasserer ligaturen, som vanligvis er laget av silke eller bomull, rundt en molar og lar den ligge i for eksempel 14 dager (86, 102). Ligaturen fremmer lokal akkumulasjon av bakterier. Dette gir en raskere progredierende og mer akutt form for periodontitt, sammenliknet med den kroniske og saktere progredierende varianten som man finner hos mennesker (92). Man kan dermed stille spørsmål om hvorvidt denne formen for periodontitt er sammenlignbar med den menneskelige varianten.

Under «Historisk forskning», står det at melatonin muligens fremmer en inflammatorisk respons, deriblant en Th2-respons. Dersom dette var tilfellet ved periodontitt, ville det bety en kraftigere inflammatorisk respons. Studiene over viser imidlertid det motsatte; at melatoninadministrering demper en inflammatorisk respons. Dette kan enten bety at melatonins pro-inflammatoriske effekt ikke gjelder ved periodontal inflammasjon, da periodontitt er en kronisk og ikke akutt inflammasjon, eller at den anti-inflammatoriske effekten er større enn den pro-inflammatoriske.

## ***Melatonin og dentale implantater***

I dagens samfunn er det vanlig at de som mangler en tann ønsker å få den erstattet. I mange tilfeller kan et implantat være den beste løsningen. Antallet dentale implantater har i de senere årene skutt i været, og i dag er gjennomsnittlig 10-års overlevelse for implantater på over 90 % (103). Løsning og tap av implantater skjer imidlertid fra tid til annen som følge av manglende osseintegrering (bein til implantatinteraksjon), eller som resultat av peri-implantitt (104). Osseintegrering vil si en direkte kontakt mellom bein og overflaten til et funksjonelt implantat etter 1 år (103). En bein-implantat-overgang er foretrukket framfor en bindevev-implantat-overgang, da sistnevnte er mer utsatt for akutte og kroniske inflammatoriske responser, smerter og eventuelt tap av implantatet. For at osseintegrering skal skje, må de beinproduserende cellene migrere langs implantatets overflate, gjennom bindevevsreisverket som har dannet seg rundt implantatoverflaten. Produksjonen av bein involverer en rekke prosesser, slik som celledanning, apposisjon, innvekst av blodårer, beindannelse og mineralisering (7). Å øke implantaters suksessrate, og å oppnå en raskere

osseointegrering, er alltid et ønske i odontologien. Kanskje er melatonin et stoff som kan hjelpe til med å oppnå dette.

Ved innsetting av dentale implantater trigger man en inflammatorisk respons og beinresorpsjon ved at leukocytter og makrofager øker konsentrasjonen av ROS i miljøet rundt et implantat (10). Under en slik prosess er det tenkelig at melatonin med sine anti-inflammatoriske og anti-oksidative evner kan komme til nytte.

Det finnes lite nyere forskning på området, men eldre studier har vist lovende resultater ved bruk av melatonin i forbindelse med implantatbehandling. Cutando et al. (105) trakk premolarer og molarer på beagle-hunder, og lot området tilhele i 2 måneder før implantater ble satt inn. I hver hund ble det satt inn 4 implantater, hvorav det i forkant av implantatbehandlingen ble administrert 1,2 mg frysetørket melatonin-pulver i 2 av alveolene. Etter 2 uker ble hundene avlivet, og implantatområdene ble undersøkt. Resultatene viste bedre bein-implantatkontakt, større beintetthet, større grad av ny beindannelse og mer bein i gjengene blant implantatene hvor melatonin ble administrert. Disse funnene tyder på en raskere tilhelingsprosess med bedre beinkvalitet rundt implantatet. Kanskje kan man dermed tenke seg at melatoninadministrering kan forkorte ventetiden fra innsetting av implantat, til toppkonstruksjon kan plasseres. Studien ble senere repetert, og forskergruppen så da på implantatområdene etter 5 og 8 uker (106). De fant også da en økt nydannelse av bein og en økt mengde bein mellom implantatgjengene, men ingen signifikant bedre bein-implantatkontakt, eller økt beintetthet rundt implantatet. Dette kan kanskje tyde på at effekten av melatoninpulver blir mindre over tid, og at effekten er størst i den innledende tilhelingsfasen. Dette kan skyldes at melatoninpulveret forbrukes eller resorberes. Studien til Muños et al. (107) underbygger hypotesen om at melatonins effekt er størst de 2 første ukene etter implantatinnsetting. Gruppen testet bruk av melatonin i kombinasjon med veksthormon på beagle-hunder, og fant størst forskjell mellom gruppene etter 2 uker. I studien konkluderte de med at melatonin og veksthormon trolig virker synergistisk. Dette er imidlertid en for liten studie til å bekrefte dette. For å bekrefte denne effekten burde man i studien hatt flere forsøksdyr og flere forsøksgrupper; (i) en gruppe som kun fikk melatonin; (ii) en annen kun veksthormon; (iii) en gruppe med en kombinasjon av de to stoffene og (iv) en kontrollgruppe.

Når det gjelder studier utført på mennesker, finnes det kun et fåtall studier, og med svært få forsøkspersoner. En nyere studie av El-Gammal et al. (108), testet applikasjon av 1 ml 1,2 mg/ml melatoningel i forbindelse med implantatbehandling. Testgruppen hadde bedre implantatstabilitet etter 1 måned og bedre beinnivå etter 1 og 3 måneder sammenliknet med kontrollgruppen. Etter 6 og 12 måneder var det imidlertid ingen forskjell.

Funn fra tidligere forskning har, som nevnt ovenfor, ført til lansering av en hypotese om at melatonin ved akutte inflammasjoner virker pro-inflammatorisk, men under kroniske inflammasjoner fungerer anti-inflammatorisk (23, 24). Dette kan muligens være tilfelle, og kanskje bidrar melatonin supplement i alveoler til en litt sterkere initial immunrespons. Samtidig så virker melatonin isolert sett som en direkte antioksidant, noe som kanskje i seg selv vil kunne moderere immunreaksjonen litt. Studien til Cutando et al. (109) viste at 2 mg melatoninapplikasjon i alveoler etter tannekstraksjon motvirket økningen i oksidativt stress, som man observerte uten melatoninadministrasjon. Muligens vil melatonin ha en liknende effekt ved implantatbehandling. Hvorvidt dette i seg selv er positivt ved en tilhelingsprosess, kan diskuteres. En inflammasjonsprosess er i seg selv nødvendig for tilheling (110). Den viktigste effekten av melatoninapplikasjon ved implantatinnsetting, vil imidlertid trolig være effekten melatonin har på beinceller og beinvev.

Melatoninapplikasjon i forbindelse med implantater, kan utfra resultatene til de diskuterte studiene, ha en positiv effekt i den initiale tilhelingsfasen, men har etter hva som er kjent ingen effekt utover dette. Det mangler studier som sammenlikner resultatene til implantater innsatt med og uten melatonin utover en ett-års periode. Ved innsetting av et implantat, er formålet at implantatet skal vare i mange år. Det vil derfor være interessant å undersøke hvorvidt melatoninpulver ved implantatinnsetting fører til en bedre implantatoverlevelse og suksess.

Når det gjelder effekten av systemisk eller topikalt administrert melatonin i relasjon til peri-implantitt, finnes det foreløpig ingen studier. Man kan imidlertid spekulere i om effekten vil være liknende det tidligere studier, nevnt under avsnittet «melatonin og periodontal sykdom», har funnet- hvor melatonin reduserer festetap og lommedybder. Dette gjenstår å

undersøke, men vil kunne være gunstig for implantatoverlevelsen dersom melatonin viser seg å ha en positiv effekt.

Det trengs imidlertid mer forskning på dette området, og få nyere studier har blitt publisert. Kanskje kan dette skyldes at andre stoffer i dag er mer aktuelle enn melatonin, med tilsvarende effekter. En annen mer kynisk tanke, er imidlertid at melatonin allerede er på markedet og i tillegg er et svært billig stoff. Forskning på melatonin vil dermed være lite lønnsomt, og trolig vil ingen legemiddelselskaper sponse denne forskningen. Det kan også tenkes at de som tidligere forsket på dette feltet har skiftet fokusområde.

## ***Melatonin og endodonti***

I likhet med periodontal sykdom, er endodontisk sykdom stort sett biofilmmediert (111). Pulpa er et sterilt vev, men karies og traume kan bringe bakterier inn til pulpa (112). Dersom dette ikke behandles, vil etter hvert hele rotkanalsystemet bli infisert av mikrober. Kroppen vil i et slikt tilfelle forsvare seg selv ved å danne en apikal periodontitt, en inflammatorisk lesjon i det periodontale vevet, med samtidig beinresorpsjon. Apikalt granulom er den vanligste formen for apikal periodontitt, og består av en inflammatorisk lesjon dominert av lymfocytter, makrofager og plasmaceller. Den bakterielle eliminasjonen i en periapikal lesjon skjer ved hjelp av polymorfonukleære celler, som frigjør hydrolytiske enzymer og reaktive oksygenradikaler. Beinresorpsjon er en bieffekt av beskyttelsesprosessen og er mediert av TNF-beta og IL-1beta, som begge aktiverer osteoklastresorpsjonen. Osteoklastene har ikke reseptorer for disse cytokinene, men det har osteoblaster og bein-stromaceller. Aktivering av reseptorene på disse cellene fører til uttrykk av RANKL som videre kan bindes til RANK på preosteoblastene, og føre til differensiering. I hvilken grad melatonin, i tillegg til vanlig endodontisk behandling, kan bidra til å moderere en slik prosess gjennom blant annet å hemme osteoklastdifferensiering og aktivering av inflammatoriske mediatorer, vil være spennende å utforske.

## ***Melatonin til behandling av periapikale lesjoner***

Saritekin et al. (113) brukte rotter hvor de eksperimentelt induserte periapikale lesjoner ved å la pulpa i den mandibulære 1. molaren stå åpen i 21 dager. Den ene gruppen fikk samtidig



en melatonininjeksjon på 10 mg/kg daglig. Både de radiologiske og histopatologiske analysene viste at den periapikale lesjonen i melatoningruppen var signifikant mindre enn i kontrollgruppen. Immunhistokjemiske analyser viste dessuten at graden av inflammasjon var signifikant lavere i melatoningruppen, med en lavere immunohistokjemisk fargeintensitet for IL-1beta, RANK og RANKL. Det var dessuten flere OPG-positive celler i melatoningruppen og man fant færre bakterie-ansamlinger i pulpa. Antallet osteoklaster var på samme nivå som kontroll-gruppen. Denne studien viser altså veldig lovende resultater for melatonin til bruk mot periapikale lesjoner, men trolig kan ikke denne studien brukes til noe særlig annet enn å så nysgjerrighet, og eventuelt inspirere til nye og mer realistiske studier. Doseringen er for det første altfor stor i forhold til det som vil være aktuelt å bruke på et menneske (se avsnittet om dosering). For det andre er en tannleges oppgave i stor grad å drive infeksjonsforebyggende behandling. Dersom det har kommet bakterier inn til pulpa, må tannen rotfylles. Melatoninbruk alene, uten annen endodontisk behandling i forbindelse med en periapikal lesjon, er ikke aktuelt. I studien induserte forsøksgruppen apikal periodontitt i tennene til rottene. Hvorvidt melatoninbruk ved en allerede eksisterende periapikal lesjon vil gi liknende resultater, vet vi i dag ikke noe om. Dette burde enkelt kunne undersøkes ved å studere pasienter med kroniske symptomfrie periapikale lesjoner, før og etter oppstart av melatoninbehandling for eksempel i forbindelse med søvnterapi. Kanskje kan man i terapisammenheng tenke seg at melatonin vil kunne bidra til å redusere en allerede eksisterende periapikal lesjon, og at pasienter dermed kan bruke peroralt melatonin for å oppnå en raskere tilheling etter endodontisk behandling. Studien viste videre at bakteriekoloniene i pulpa var færre i melatoningruppen. Kanskje kan melatonin tenkes brukt for å bremse progresjonen av infeksjonen. Dette indikerer i hvert fall studien til Li et al. (98). Studien viste at melatonin kan begrense den inflammatoriske prosessen i pulpa. I studien brukte de rotter, hvorav en gruppe fikk 10 mg/kg melatonin daglig i 1, 3 og 5 dager. Resultatene deres viste at melatonininjeksjoner bidrar til å redusere den inflammatoriske responsen i pulpa ved akutt pulpitt. TLR4-signalisering er involvert i pulpa inflammasjonsmekanismen (114, 115). TLR4 aktiveres av lipopolysakkarid (LPS) på Gram-negative bakteriers yttermembran. Aktivering av TLR4 fører til en aktivering av transkripsjonsfaktoren NF- $\kappa$ B som initierer transkripsjon av inflammatoriske mediatorer (116). Studien til Li et al. (98) fant at TLR4 og NF- $\kappa$ B var sterkt oppregulert ved akutt pulpitt, og at melatoninadministrering etter 1 dag førte til en signifikant reduksjon i uttrykket. Det samme gjaldt for cytokinene IL-1beta og

TNF-alfa dannet nedstrøms for TLR4-signaliseringen. I studien står det ikke nevnt hvordan uttrykket av TLR4, NF- $\kappa$ B og cytokinene var etter melatoninadministrering dag 3 og 5. Man kan ut fra dette anta at det etter dag 3 og 5 ikke var noen signifikant forskjell mellom dyrene som hadde fått melatonin og kontrollgruppen. Ut fra dette kan man kanskje tenke seg at melatonins effekt på TLR4 og NF- $\kappa$ B kun er kortvarig. Vevsskaden etter 5 dager var likevel signifikant redusert i melatoningruppen, så kanskje en maksimal virkning av melatonin det første døgnet ved en akutt pulpitt er tilstrekkelig. Melatindosen brukt i studien er likevel en stor svakhet i forhold til studiens overførbarhet til mennesker.

### *Melatonin som del av endodontisk prosedyre*

Et fåtall studier har sett på melatonins potensiale til å erstatte velutprøvde endodontiske materialer og midler, i et forsøk på å forbedre den endodontiske infeksjonsbehandlingen. Guerrero-Guirones et al. (117) undersøkte melatonins effekt på direkte pulpateksjon på rotter, og sammenliknet melatonin med den endodontiske sementen MTA. Etter 30 dager fant man en dentinbro i alle forsøksgruppene, og fravær av pulpanekrose og inflammasjon. I studien hevdes det at dette indikerer at melatonin, i likhet med å stimulere osteoblaster til beindannelse, også kan stimulere odontoblaster til dentindannelse. Dette finnes det per i dag ingen evidens for. Trolig skyldes imidlertid de observerte resultatene heller en stor grad av asepsis ved utførelsen av pulpateksjonen, og ikke melatonins effekt i seg selv.

En studie av Tosun et al. (118) så på bondingstyrken mellom tann og AH+ sealer, når melatonin, Natriumhypokloritt (NaOCl) og Ethylene Diamine-Tetra-acetic Acid (EDTA) ble brukt som irrigasjonsmiddel alene, og i kombinasjon. Melatonin etterfulgt av EDTA, og NaOCl etterfulgt av melatonin, ga den aller høyeste gjennomsnittlige bondingstyrken. Det er likevel verdt å merke seg at selv om flere studier i fremtiden bekrefter disse observasjonene, vil man likevel ikke begynne å anvende melatonin klinisk som irrigasjonsmiddel. NaOCl og EDTA er velutprøvde midler med egnede irrigasjonsegenskaper. NaOCl har evne til å løse opp organisk materiale, fungerer desinfiserende og er minimalt irriterende, mens EDTA fjerner smear-laget i rotkanalen (112). Det er ingen forskning som viser at melatonin hverken fungerer vevsopløselig, desinfiserende, eller ved å fjerne smearlag. Den eneste grunnen til at melatonin kunne tenkes å administreres gjennom rotkanalen, er dersom flere studier bekrefter funnene til Saritekin et al. (113) , og finner en positiv effekt av melatonin på

periapikale lesjoner. I et slikt tilfelle kan man tenke seg at melatonintilførsel via rotkanalen kan bidra til å begrense en slik periapikal lesjon. Kanskje kan melatonin i tillegg ha en gunstig effekt på tilhelingsprosessen ved apisektomi, Dette må i tilfelle undersøkes nærmere før en slik hypotese kan bekreftes.

## ***Melatonin og andre inflammasjoner***

Svært lite forskning relatert til melatonin og andre orale inflammasjoner har blitt publisert. Det kan ikke sies noe definitivt om melatonins potensielt lindrende eller terapeutiske effekt på andre inflammatoriske tilstander, som eksempelvis infeksjoner forårsaket av herpes simplex virus, perikoronitter, alveolitter, oral lichen planus etc. Det betyr riktig nok ikke at melatonin ikke kan ha en effekt på disse tilstandene. En studie av Nunes Oda et al. (119) viste positiv effekt av melatonin på herpes simplex-infeksjoner, mens Soybir et al. (120) viste at melatonin muligens har evne til å fremme sårtilheling. En fullstendig oversikt over melatonins potensielle virkningsmekanismer er langt fra kjent, og samspillet mellom melatonin, oralt vev og immunsystemet virker å være komplekst. Flere studier knyttet til melatonin og orale inflammasjoner vil være nødvendig for å bekrefte eller avkrefte en potensiell effekt.

# Sikkerhet, administrasjonsmåte og dosering

## *Sikkerhet*

Dersom tannleger i fremtiden skal benytte seg av melatonin i klinisk praksis, er det nødvendig med en oversikt over melatonins potensielle toksisitet og eventuelle bivirkninger. Fordelene ved bruk av legemidler eller behandlingsmåter, herunder melatoninbruk, må alltid være vesentlig større enn ulempene.

Generelt så har menneske- og dyrestudier dokumentert at kortvarig bruk av melatonin er trygt, selv i ekstreme doser (83). Mange mennesker bruker i dag melatonin mot søvnproblemer og bivirkningene hevdes å være sjeldne (121). Som ved alle andre legemidler vil imidlertid bivirkninger alltid forekomme. I melatonin sitt tilfelle anses bivirkningene når de forekommer å være av en mindre alvorlig karakter, og de vanligst forekommende er døshighet, tretthet, svimmelhet, forvirring, kvalme, hodepine, lav kroppstemperatur, hemming av eggøsning, magesmerter, endret søvnmønster, humørendringer, kløe og irritabilitet (121, 122). Ofte har ikke studiene som tar for seg melatoninadministrasjon som hovedformål å kartlegge bivirkninger, men bivirkningene registreres etter hvert som de dukker opp. Dette kan føre til at man ikke får en helt korrekt informasjon om melatonins bivirkningsprofil. En annen årsak til manglende informasjon knyttet til melatonins bivirkninger kan være hvordan melatonin er klassifisert. Melatonin er i noen land klassifisert som et legemiddel og i andre land som et kosttilskudd. Bivirkninger for legemidler registreres mer systematisk enn bivirkninger for kosttilskudd, og det kan tenkes at det er en viss underrapportering av bivirkninger som følge av dette.

Et fåtall studier har vist at melatonin kan påvirke den reproduktive funksjonen ved blant annet å gi reduksjon i spermiekonsentrasjonen og -motiliteten hos menn og hindre eggøsning hos kvinner (122). I en studie med 63 menn fant man dessuten at melatoninsupplement ga økt reaktiv aggresjon (123). Dette vil trolig gjelde for kun et fåtall mennesker og kun dersom melatoninadministrering gir en uttalt systemisk effekt. Ved en topikal administrering av melatonin, vil man antakelig unngå de fleste av de uønskede effektene. Likevel må man ha slike mulige bivirkninger med i vurderingen.

Om melatonin trygt kan brukes på barn og ungdom er fremdeles uklart. Det har blitt spekulert i om langvarig bruk av melatonin kan påvirke kjønnsmodningen, da enkelte studier på mennesker viser til en inhibitorisk effekt av melatonin på hypothalamus-hypofysegonadefunksjonen, selv om man i dag ikke har klart å etablere en eksakt sammenheng (83). Gravide og ammende burde, grunnet mangel på humane studier, unngå bruk av melatonin supplement.

Når det gjelder interaksjonsfare, brytes melatonin ned i leveren av CYP1A2 enzymet (5). Legemidler som metaboliseres av dette enzymet, slik som fluvoxamine, koffein og orale prevensjonsmidler, øker plasmanivåene av melatonin etter eksogen administrasjon av melatonin (83). Når det gjelder stoffer som øker aktiviteten til CYP1A2, er røyking den viktigste, men rifampicin og barbiturater kan også øke aktiviteten til enzymet (124). At de øker aktiviteten til enzymet vil si at melatoninkonsentrasjonen i plasma reduseres.

## *Administrasjonsmåte*

De aller fleste av de humane studiene under «Nyere forskning», har brukt peroral administrering av melatonin. Ved peroral administrasjon tas melatonin raskt opp i kroppen og når sin høyeste konsentrasjon i blodet etter mellom 30 minutter og 2 timer (121). Opptaket er relativt upåvirket av matinntak. Konjugering skjer i leveren og konjugeringsproduktene skilles ut gjennom urinen nesten parallelt med serum-melatoninkonsentrasjonen; stor melatoninkonsentrasjon i serum tilsvarer stor utskillelse og liten melatoninkonsentrasjon i serum tilsvarer liten utskillelse (12).

I forsøkssammenheng kan det være gunstig med peroral administrering kontra topikal administrering fordi man ved å gi en tablett peroralt vet med sikkerhet at alle forsøkspersonene får i seg samme mengde melatonin. På en annen side så vet vi at biotilgjengeligheten av oralt administrert melatonin varierer veldig. Man har for eksempel sett at forsøkspersoner som tok 80 mg melatoninkapsler hadde serumkonsentrasjoner av melatonin som varierte fra å være 350 til 10 000 ganger høyere enn den normale nattlige serumkonsentrasjonen av melatonin 60-150 minutter senere (12). Disse verdiene var stabile i

90 minutter. Den varierende biotilgjengeligheten kan være en utfordring dersom melatonin skal administreres peroralt, da man vil få varierende serumkonsentrasjoner til tross for administrering av samme melatoninmengde. Dessuten vil sjansen for uønskede systemiske effekter være større enn dersom melatonin administreres topikalt. Melatonin burde uavhengig av administrasjonsmåte administreres på kvelden, for å ytterligere redusere de uønskede effektene.

I klinisk sammenheng, slik som eksempelvis ved periodontal sykdom og perikoronitt, vil trolig melatonin i skyllemidler, geler og tannkremer, være det beste alternativet. Dette for å sikre tilgang på virkestedet. Studien til Cutando et al. (79) er et eksempel på dette. Man vil ved topikal administrering få virkestoffet direkte til virkestedet, og på denne måten redusere risikoen for bivirkninger. Når det er sagt, vil alltid en del av det topikale melatoninsupplementet svelges, og dermed kunne virke systemisk. For munntørre pasienter med lite spytt, vil topikal applikasjon i form av munnskyllevæsker eller geler være ønskelig. Disse menneskene vil i liten grad få tilført melatoninen som administreres peroralt, grunnet mangel på saliva. Melatoningeler og skyllemidler vil dessuten kunne ha en lindrende effekt. Topikal administrering vil også være det foretrukne i forbindelse med implantatbehandling. Her kan man tenke seg at melatoningel eller pulver kan appliseres direkte i alveolen, eller at melatonin sprayes på implantatet før innsetting. Melatonin kan også i etterkant av den kirurgiske prosedyren tenkes å appliseres rundt implantatet som gel.

Når det gjelder melatoninadministrering i forbindelse med periapikale lesjoner, er peroral administrering den mest aktuelle administrasjonsmåten. Dette er fordi lesjonen ligger inne i bein med god avstand til gingiva. Dermed vil trolig melatoninadministrasjon gjennom munnskyl, tannkrem og liknende ha liten effekt.

## *Dosering*

For melatonin som et medikamentelt søvnmiddel, er en enkeltdose på 1-10 mg peroralt betegnet som standarden (83). De humane studiene under «Nyere forskning» har i likhet med dette brukt en peroral dosering fra 1-10 mg. Det er ingen entydige tall på hva som er optimal dosering, hverken når det kommer til søvn, eller ved orale problemstillinger. Man vil alltid

etterstrebe en så lav dosering som mulig, fordi en doseøkning vil kunne føre til økte bivirkninger. 1 mg melatonin har i studien til Tinto et al. (78) vist seg å kunne redusere lommedybder. Dette er imidlertid en veldig liten studie, og det vil være behov for flere studier som bekrefter disse funnene. På en annen side vil muligens en høyere dosering kunne gi bedre effekt, og trolig vil melatonin-dosen variere avhengig av sykdommens alvorlighetsgrad (86). Røyking vil også trolig påvirke doseringen, fordi dette som nevnt over øker aktiviteten til CYP1A2. Røykere vil altså kunne ha behov for en større melatonin-dose enn ikke-røykere. Dette gjelder kun ved peroral administrering.

Som et topikal middel har melatonin blitt brukt i 1% konsentrasjoner (79, 84). Om dette er den ideelle konsentrasjonen, er det foreløpig ingen studier som har undersøkt.

Ved implantatinnsetting brukes 1,2 mg frysetørket melatoninpulver som standard mengde for ett implantat (105, 106, 108). Effekt av forskjellige doseringer har trolig ikke blitt testet ut i implantatsammenheng.

Den perorale melatonin-doseringen i dyrestudier er gjerne mye høyere enn i menneskestudier. I dyrestudier brukes det ofte en dosering på 10 mg/kg (86, 98, 99). Dette er en ekstremt høy dose, og tilsvarende dose vil ikke være aktuell for mennesker. Høye doser brukes ofte i de innledende studiene for å kunne se tydelige effekter. Deretter går man vanligvis ned i konsentrasjon, og særlig når man går over til de humane studiene. Når det gjelder disse dyrestudiene kan man dermed stille seg spørsmål ved hvorvidt resultatene i det hele tatt vil være representative for mennesker. Uavhengig av dose, vil imidlertid alltid dyrestudier i seg selv ha utfordringer relatert til overførbarheten til mennesker. Mennesker og rotter ligger et stykke fra hverandre i det fylogenetiske treet, og til tross for at vi deler mange likheter så deler vi også mange ulikheter. Disse ulikhetene kan påvirke effektene man finner i forsøk.

## Avsluttende ord

Oppgaven viser at det i dag er for lite evidens til å kunne fastslå en sikker effekt av melatonin på orale inflammasjoner og beintilheling. Det er viktig å påpeke at kun et fåtall studier har vist effektene diskutert over, og i mange tilfeller har de utvalgte studiene mangler. De publiserte studiene har for få forsøksindivider og strekker seg over en for kort tidsperiode til å kunne konkludere med en sikker effekt. Dersom melatonin hadde hatt en så stor effekt som enkelte studier hevder, er det dessuten sannsynlig at dette ville kommet frem på et mye tidligere tidspunkt. Det ville ikke vært behov for å forske så mange år for å bevise en effekt. Videre ville man forvente å se en forskjell i sykdomsprevalens og beintilheling blant dem som sover mye og lite, og blant dem som sover med lyset på og ikke.

Et stoff må være veldokumentert før man begynner å bruke det i behandlingssammenheng. Dessuten må kostnad vurderes opp mot effekt. I melatonin sitt tilfelle vil ikke kostnaden være det begrensende, dersom man klarer å samle nok evidens for en effekt. Melatonin er et billig stoff å produsere. Kanskje er det nettopp denne lave prisen som har gjort at man i dag har for lite evidens. Fra legemiddelindustriens ståsted vil det ikke lønne seg å støtte opp under forskning som ikke på sikt vil kunne gi avkastning.

Det er i dag svært få artikler som motbeviser funnene til studiene presentert over. Dette kan enten være fordi det er vanskelig å få publisert studier med negative resultater eller fordi melatonin faktisk har den effekten som studiene viser. Studiene presentert over viser utvilsomt lovende resultater innenfor flere fagområder. Det er for tidlig å si sikkert om melatonin har en fremtid innen oral helse, men det er også for tidlig å avvise.

## Konklusjon

Det er i dag alt for lite evidens til å kunne fastslå en sikker effekt av melatonin på orale inflammasjoner og beintilheling. De publiserte studiene viser imidlertid et interessant potensial. Flere studier som strekker seg over en lengre tidsperiode med flere forsøkspersoner er nødvendig for å kunne konkludere enten den ene eller andre veien.



## Referanser:

1. Kohli SS, Kohli VS. Figure 1: Interaction of the RANKL-RANK/OPG biomolecular complex. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, Volume 15, Issue: 3, Pages: 175-181; 2011.
2. Reiter R, Rosales-Corral SA, Lui XY, Acuna-Castroviejo D, Escames G, Tan D. Figure 1. *Journal of Periodontal Research*, Volume: 50, Issue: 1, Pages: 9-17; 2014.
3. Zhdanova IV, Lynch HJ, Wurtman RJ. Melatonin: a sleep-promoting hormone. *Sleep*. 1997;20(10):899-907.
4. Menendez-Pelaez A, Reiter RJ. Distribution of melatonin in mammalian tissues: the relative importance of nuclear versus cytosolic localization. *J Pineal Res*. 1993;15(2):59-69.
5. Claustrat B, Leston J. Melatonin: Physiological effects in humans. *Neurochirurgie*. 2015;61(2-3):77-84.
6. Tan D-X, Manchester LC, Reiter RJ, Plummer BF, Hardies LJ, Weintraub ST, et al. A Novel Melatonin Metabolite, Cyclic 3-Hydroxymelatonin: A Biomarker of *Vivo* Hydroxyl Radical Generation. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998;253(3):614-20.
7. Permuy M, Lopez-Pena M, Gonzalez-Cantalapiedra A, Munoz F. Melatonin: A Review of Its Potential Functions and Effects on Dental Diseases. *Int J Mol Sci*. 2017;18(4).
8. Reiter RJ. Antioxidant actions of melatonin. *Advances in pharmacology* (San Diego, Calif). 1997;38:103-17.
9. Pandi-Perumal SR, Trakht I, Srinivasan V, Spence DW, Maestroni GJ, Zisapel N, et al. Physiological effects of melatonin: role of melatonin receptors and signal transduction pathways. *Prog Neurobiol*. 2008;85(3):335-53.
10. Carpentieri AR, Peralta Lopez ME, Aguilar J, Sola VM. Melatonin and periodontal tissues: Molecular and clinical perspectives. *Pharmacol Res*. 2017;125(Pt B):224-31.
11. Reiter RJ. The pineal and its hormones in the control of reproduction in mammals. *Endocr Rev*. 1980;1(2):109-31.
12. Brzezinski A. Melatonin in humans. *N Engl J Med*. 1997;336(3):186-95.
13. Carrillo-Vico A, Guerrero JM, Lardone PJ, Reiter RJ. A review of the multiple actions of melatonin on the immune system. *Endocrine*. 2005;27(2):189-200.
14. Arendt J. Melatonin. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1988;29(2):205-29.
15. Gomez-Moreno G, Guardia J, Ferrera MJ, Cutando A, Reiter RJ. Melatonin in diseases of the oral cavity. *Oral Dis*. 2010;16(3):242-7.
16. Cardinali DP, Lynch HJ, Wurtman RJ. Binding of melatonin to human and rat plasma proteins. *Endocrinology*. 1972;91(5):1213-8.
17. Vakkuri O. Diurnal rhythm of melatonin in human saliva. *Acta Physiol Scand*. 1985;124(3):409-12.
18. Shimozuma M, Tokuyama R, Tatehara S, Umeki H, Ide S, Mishima K, et al. Expression and cellular localization of melatonin-synthesizing enzymes in rat and human salivary glands. *Histochem Cell Biol*. 2011;135(4):389-96.
19. Jung B, Ahmad N. Melatonin in cancer management: progress and promise. *Cancer Res*. 2006;66(20):9789-93.
20. Jahromi BN, Sadeghi S, Alipour S, Parsanezhad ME, Alamdarloo SM. Effect of melatonin on the outcome of assisted reproductive technique cycles in women with diminished ovarian reserve: A double-blinded randomized clinical trial. *Iranian journal of medical sciences*. 2017;42(1):73.
21. Zybach K, Friesen CA, Schurman JV. Therapeutic effect of melatonin on pediatric functional dyspepsia: a pilot study. *World J Gastrointest Pharmacol Ther*. 2016;7(1):156.

22. Dominguez-Rodriguez A, Abreu-Gonzalez P, Sanchez-Sanchez JJ, Kaski JC, Reiter RJ. Melatonin and circadian biology in human cardiovascular disease. *J Pineal Res.* 2010;49(1):14-22.
23. Carrillo-Vico A, Lardone PJ, Alvarez-Sanchez N, Rodriguez-Rodriguez A, Guerrero JM. Melatonin: buffering the immune system. *Int J Mol Sci.* 2013;14(4):8638-83.
24. Radogna F, Diederich M, Ghibelli L. Melatonin: a pleiotropic molecule regulating inflammation. *Biochem Pharmacol.* 2010;80(12):1844-52.
25. Cardinali DP, Ladizesky MG, Boggio V, Cutrera RA, Mautalen C. Melatonin effects on bone: experimental facts and clinical perspectives. *J Pineal Res.* 2003;34(2):81-7.
26. Marsh P. *Marsh and Martin's oral microbiology.* Edinburgh, Scotland: Elsevier; 2016.
27. Kilian M, Chapple IL, Hannig M, Marsh PD, Meuric V, Pedersen AM, et al. The oral microbiome - an update for oral healthcare professionals. *Br Dent J.* 2016;221(10):657-66.
28. Lerner AB, Case JD, Takahashi Y, Lee TH, Mori W. ISOLATION OF MELATONIN, THE PINEAL GLAND FACTOR THAT LIGHTENS MELANOCYTES1. *J Am Chem Soc.* 1958;80(10):2587-.
29. Carrillo-Vico A, Calvo JR, Abreu P, Lardone PJ, García-Mauriño S, Reiter RJ, et al. Evidence of melatonin synthesis by human lymphocytes and its physiological significance: possible role as intracrine, autocrine, and/or paracrine substance. *FASEB J.* 2004;18(3):537-9.
30. Conti A, Conconi S, Hertens E, Skwarlo-Sonta K, Markowska M, Maestroni JM. Evidence for melatonin synthesis in mouse and human bone marrow cells. *J Pineal Res.* 2000;28(4):193-202.
31. Naranjo MC, Guerrero JM, Rubio A, Lardone PJ, Carrillo-Vico A, Carrascosa-Salmoral MP, et al. Melatonin biosynthesis in the thymus of humans and rats. *Cell Mol Life Sci.* 2007;64(6):781-90.
32. Finocchiaro LM, Nahmod VE, Launay JM. Melatonin biosynthesis and metabolism in peripheral blood mononuclear leucocytes. *Biochem J.* 1991;280 ( Pt 3)(Pt 3):727-31.
33. Kaur C, Ling EA. Effects of melatonin on macrophages/microglia in postnatal rat brain. *J Pineal Res.* 1999;26(3):158-68.
34. Currier NL, Sun LZ, Miller SC. Exogenous melatonin: quantitative enhancement in vivo of cells mediating non-specific immunity. *J Neuroimmunol.* 2000;104(2):101-8.
35. Morrey KM, McLachlan JA, Serkin CD, Bakouche O. Activation of human monocytes by the pineal hormone melatonin. *J Immunol.* 1994;153(6):2671-80.
36. Baeza I, Alvarado C, Alvarez P, Salazar V, Castillo C, Ariznavarreta C, et al. Improvement of leucocyte functions in ovariectomised aged rats after treatment with growth hormone, melatonin, oestrogens or phyto-oestrogens. *J Reprod Immunol.* 2009;80(1-2):70-9.
37. Pioli C, Caroleo MC, Nistico G, Doria G. Melatonin increases antigen presentation and amplifies specific and non specific signals for T-cell proliferation. *Int J Immunopharmacol.* 1993;15(4):463-8.
38. Peña C, Rincon J, Pedreanez A, Viera N, Mosquera J. Chemotactic effect of melatonin on leukocytes. *J Pineal Res.* 2007;43(3):263-9.
39. Ader R, Cohen N, Felten D. Psychoneuroimmunology: interactions between the nervous system and the immune system. *Lancet.* 1995;345(8942):99-103.
40. Carrillo-Vico A, García-Pergañeda A, Naji L, Calvo JR, Romero MP, Guerrero JM. Expression of membrane and nuclear melatonin receptor mRNA and protein in the mouse immune system. *Cell Mol Life Sci.* 2003;60(10):2272-8.
41. Pozo D, Delgado M, Fernandez-Santos JM, Calvo JR, Gomariz RP, Martin-Lacave I, et al. Expression of the Mel1a-melatonin receptor mRNA in T and B subsets of lymphocytes from rat thymus and spleen. *FASEB J.* 1997;11(6):466-73.
42. Romagnani S. T-cell subsets (Th1 versus Th2). *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2000;85(1):9-18; quiz , 21.

43. Maestroni GJ. T-helper-2 lymphocytes as a peripheral target of melatonin. *J Pineal Res.* 1995;18(2):84-9.
44. García-Mauriño S, Pozo D, Carrillo-Vico A, Calvo JR, Guerrero JM. Melatonin activates Th1 lymphocytes by increasing IL-12 production. *Life Sci.* 1999;65(20):2143-50.
45. Garcia-Mauriño S, Gonzalez-Haba MG, Calvo JR, Rafii-El-Idrissi M, Sanchez-Margalet V, Goberna R, et al. Melatonin enhances IL-2, IL-6, and IFN-gamma production by human circulating CD4+ cells: a possible nuclear receptor-mediated mechanism involving T helper type 1 lymphocytes and monocytes. *J Immunol.* 1997;159(2):574-81.
46. Raghavendra V, Singh V, Kulkarni SK, Agrewala JN. Melatonin enhances Th2 cell mediated immune responses: lack of sensitivity to reversal by naltrexone or benzodiazepine receptor antagonists. *Mol Cell Biochem.* 2001;221(1-2):57-62.
47. Jung KH, Hong SW, Zheng HM, Lee HS, Lee H, Lee DH, et al. Melatonin ameliorates cerulein-induced pancreatitis by the modulation of nuclear erythroid 2-related factor 2 and nuclear factor-kappaB in rats. *J Pineal Res.* 2010;48(3):239-50.
48. Negi G, Kumar A, Sharma SS. Melatonin modulates neuroinflammation and oxidative stress in experimental diabetic neuropathy: effects on NF-κB and Nrf2 cascades. *J Pineal Res.* 2011;50(2):124-31.
49. Dubois RN, Abramson SB, Crofford L, Gupta RA, Simon LS, Van De Putte LB, et al. Cyclooxygenase in biology and disease. *FASEB J.* 1998;12(12):1063-73.
50. Deng WG, Tang ST, Tseng HP, Wu KK. Melatonin suppresses macrophage cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase expression by inhibiting p52 acetylation and binding. *Blood.* 2006;108(2):518-24.
51. Dong WG, Mei Q, Yu JP, Xu JM, Xiang L, Xu Y. Effects of melatonin on the expression of iNOS and COX-2 in rat models of colitis. *World J Gastroenterol.* 2003;9(6):1307-11.
52. Singh P, Singh N, Palit G. Analysing the role of COX-2 in acute oesophagitis and in melatonin-exerted protection against experimental reflux oesophagitis in rats. *J Pharm Pharmacol.* 2011;63(12):1572-80.
53. Galano A, Tan DX, Reiter RJ. Melatonin as a natural ally against oxidative stress: a physicochemical examination. *J Pineal Res.* 2011;51(1):1-16.
54. de Groot H. Reactive oxygen species in tissue injury. *Hepatology.* 1994;41(4):328-32.
55. Kose O, Arabaci T, Kara A, Yemenoglu H, Kermen E, Kizildag A, et al. Effects of Melatonin on Oxidative Stress Index and Alveolar Bone Loss in Diabetic Rats With Periodontitis. *J Periodontol.* 2016;87(5):e82-90.
56. Brambilla D, Mancuso C, Scuderi MR, Bosco P, Cantarella G, Lempereur L, et al. The role of antioxidant supplement in immune system, neoplastic, and neurodegenerative disorders: a point of view for an assessment of the risk/benefit profile. *Nutr J.* 2008;7:29.
57. Toyokuni S. Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology. *Pathol Int.* 1999;49(2):91-102.
58. Alfadda AA, Sallam RM. Reactive oxygen species in health and disease. *J Biomed Biotechnol.* 2012;2012:936486.
59. Okatani Y, Wakatsuki A, Kaneda C. Melatonin increases activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase in fetal rat brain. *J Pineal Res.* 2000;28(2):89-96.
60. Allegra M, Reiter RJ, Tan DX, Gentile C, Tesoriere L, Livrea MA. The chemistry of melatonin's interaction with reactive species. *J Pineal Res.* 2003;34(1):1-10.
61. Barlow-Walden LR, Reiter RJ, Abe M, Pablos M, Menendez-Pelaez A, Chen LD, et al. Melatonin stimulates brain glutathione peroxidase activity. *Neurochem Int.* 1995;26(5):497-502.

62. Liu F, Ng TB. Effect of pineal indoles on activities of the antioxidant defense enzymes superoxide dismutase, catalase, and glutathione reductase, and levels of reduced and oxidized glutathione in rat tissues. *Biochem Cell Biol.* 2000;78(4):447-53.
63. Pablos MI, Agapito MT, Gutierrez R, Recio JM, Reiter RJ, Barlow-Walden L, et al. Melatonin stimulates the activity of the detoxifying enzyme glutathione peroxidase in several tissues of chicks. *J Pineal Res.* 1995;19(3):111-5.
64. Reiter RJ, Tan DX, Burkhardt S. Reactive oxygen and nitrogen species and cellular and organismal decline: amelioration with melatonin. *Mech Ageing Dev.* 2002;123(8):1007-19.
65. Galano A, Tan DX, Reiter RJ. On the free radical scavenging activities of melatonin's metabolites, AFMK and AMK. *J Pineal Res.* 2013;54(3):245-57.
66. Halse J. Benmetabolisme: Store medisinske leksikon; [updated 09.05.2018; cited 2020 29.03]. Available from: <https://sml.snl.no/benmetabolisme>.
67. Hardy R, Cooper MS. Bone loss in inflammatory disorders. *J Endocrinol.* 2009;201(3):309-20.
68. Nichols H. All you need to know about bone marrow: *MedicalNewsToday*; 2017 [cited 2020 05.04]. Available from: [https://www.medicalnewstoday.com/articles/285666#what\\_is\\_bone\\_marrow](https://www.medicalnewstoday.com/articles/285666#what_is_bone_marrow).
69. Shoumura S, Chen H, Emura S, Utsumi M, Hayakawa D, Yamahira T, et al. An in vitro study on the effects of melatonin on the ultrastructure of the hamster parathyroid gland. *Histol Histopathol.* 1992;7(4):715-8.
70. Tan DX, Manchester LC, Reiter RJ, Qi WB, Zhang M, Weintraub ST, et al. Identification of highly elevated levels of melatonin in bone marrow: its origin and significance. *Biochim Biophys Acta.* 1999;1472(1-2):206-14.
71. Satomura K, Tobiume S, Tokuyama R, Yamasaki Y, Kudoh K, Maeda E, et al. Melatonin at pharmacological doses enhances human osteoblastic differentiation in vitro and promotes mouse cortical bone formation in vivo. *J Pineal Res.* 2007;42(3):231-9.
72. Roth JA, Kim BG, Lin WL, Cho MI. Melatonin promotes osteoblast differentiation and bone formation. *J Biol Chem.* 1999;274(31):22041-7.
73. Nakade O, Koyama H, Arijji H, Yajima A, Kaku T. Melatonin stimulates proliferation and type I collagen synthesis in human bone cells in vitro. *J Pineal Res.* 1999;27(2):106-10.
74. Koyama H, Nakade O, Takada Y, Kaku T, Lau KH. Melatonin at pharmacologic doses increases bone mass by suppressing resorption through down-regulation of the RANKL-mediated osteoclast formation and activation. *J Bone Miner Res.* 2002;17(7):1219-29.
75. Khosla S. Minireview: The opg/rankl/rank system. *Endocrinology.* 2001;142(12):5050-5.
76. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Luthy R, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell.* 1997;89(2):309-19.
77. Ramirez-Fernandez MP, Calvo-Guirado JL, de-Val JE, Delgado-Ruiz RA, Negri B, Pardo-Zamora G, et al. Melatonin promotes angiogenesis during repair of bone defects: a radiological and histomorphometric study in rabbit tibiae. *Clin Oral Investig.* 2013;17(1):147-58.
78. Tinto M, Sartori M, Pizzi I, Verga A, Longoni S. Melatonin as host modulating agent supporting nonsurgical periodontal therapy in patients affected by untreated severe periodontitis: A preliminary randomized, triple-blind, placebo-controlled study. *J Periodontal Res.* 2019.
79. Cutando A, Montero J, Gomez-de Diego R, Ferrera MJ, Lopez-Valverde A. Effect of topical application of melatonin on serum levels of C-reactive protein (CRP), interleukin-6

- (IL-6) and tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) in patients with type 1 or type 2 diabetes and periodontal disease. *J Clin Exp Dent*. 2015;7(5):e628-33.
80. Gemmell E, Marshall RI, Seymour GJ. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontol 2000*. 1997;14:112-43.
  81. El-Sharkawy H, Elmeadawy S, Elshinnawi U, Anees M. Is dietary melatonin supplementation a viable adjunctive therapy for chronic periodontitis?-A randomized controlled clinical trial. *J Periodontal Res*. 2019;54(2):190-7.
  82. Preshaw PM. Host modulation therapy with anti-inflammatory agents. *Periodontol 2000*. 2018;76(1):131-49.
  83. Andersen LP, Gogenur I, Rosenberg J, Reiter RJ. The Safety of Melatonin in Humans. *Clin Drug Investig*. 2016;36(3):169-75.
  84. Montero J, López-Valverde N, Ferrera M-J, López-Valverde A. Changes in crevicular cytokines after application of melatonin in patients with periodontal disease. *Journal of clinical and experimental dentistry*. 2017;9(9):e1081.
  85. Bazyar H, Gholinezhad H, Moradi L, Salehi P, Abadi F, Ravanbakhsh M, et al. The effects of melatonin supplementation in adjunct with non-surgical periodontal therapy on periodontal status, serum melatonin and inflammatory markers in type 2 diabetes mellitus patients with chronic periodontitis: a double-blind, placebo-controlled trial. *Inflammopharmacology*. 2019;27(1):67-76.
  86. Renn TY, Huang YK, Feng SW, Wang HW, Lee WF, Lin CT, et al. Prophylactic supplement with melatonin successfully suppresses the pathogenesis of periodontitis through normalizing RANKL/OPG ratio and depressing the TLR4/MyD88 signaling pathway. *J Pineal Res*. 2018;64(3).
  87. Ghallab N, Hamdy E, Shaker O. Malondialdehyde, superoxide dismutase and melatonin levels in gingival crevicular fluid of aggressive and chronic periodontitis patients. *Aust Dent J*. 2016;61(1):53-61.
  88. Virto L, Cano P, Jimenez-Ortega V, Fernandez-Mateos P, Gonzalez J, Haugen HJ, et al. Melatonin as adjunctive therapy in the treatment of periodontitis associated with obesity. *J Clin Periodontol*. 2018;45(11):1336-46.
  89. Virto L, Haugen HJ, Fernández-Mateos P, Cano P, González J, Jiménez-Ortega V, et al. Melatonin expression in periodontitis and obesity: An experimental in-vivo investigation. *J Periodontal Res*. 2018;53(5):825-31.
  90. Bunæs DF, Verket A, Aass AM, Bolstad AI. Nordisk tema· Sammenheng mellom diabetes mellitus Type 2 og periodontal sykdom.
  91. Suvan J, Petrie A, Moles D, Nibali L, Patel K, Darbar U, et al. Body mass index as a predictive factor of periodontal therapy outcomes. *J Dent Res*. 2014;93(1):49-54.
  92. Balci Yuce H, Karatas O, Aydemir Turkal H, Pirim Gorgun E, Ocakli S, Benli I, et al. The Effect of Melatonin on Bone Loss, Diabetic Control, and Apoptosis in Rats With Diabetes With Ligature-Induced Periodontitis. *J Periodontol*. 2016;87(4):e35-43.
  93. Zhou W, Zhang X, Zhu CL, He ZY, Liang JP, Song ZC. Melatonin Receptor Agonists as the "Perioceutics" Agents for Periodontal Disease through Modulation of *Porphyromonas gingivalis* Virulence and Inflammatory Response. *PLoS One*. 2016;11(11):e0166442.
  94. Tekbas OF, Ogur R, Korkmaz A, Kilic A, Reiter RJ. Melatonin as an antibiotic: new insights into the actions of this ubiquitous molecule. *J Pineal Res*. 2008;44(2):222-6.
  95. Mullington JM, Simpson NS, Meier-Ewert HK, Haack M. Sleep loss and inflammation. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*. 2010;24(5):775-84.
  96. Patel SR, Zhu X, Storfer-Isser A, Mehra R, Jenny NS, Tracy R, et al. Sleep duration and biomarkers of inflammation. *Sleep*. 2009;32(2):200-4.

97. Reiter RJ, Tan DX, Korkmaz A, Rosales-Corral SA. Melatonin and stable circadian rhythms optimize maternal, placental and fetal physiology. *Hum Reprod Update*. 2014;20(2):293-307.
98. Li JG, Lin JJ, Wang ZL, Cai WK, Wang PN, Jia Q, et al. Melatonin attenuates inflammation of acute pulpitis subjected to dental pulp injury. *Am J Transl Res*. 2015;7(1):66-78.
99. Arabaci T, Kermen E, Ozkanlar S, Kose O, Kara A, Kizildag A, et al. Therapeutic Effects of Melatonin on Alveolar Bone Resorption After Experimental Periodontitis in Rats: A Biochemical and Immunohistochemical Study. *J Periodontol*. 2015;86(7):874-81.
100. Kawai T, Matsuyama T, Hosokawa Y, Makihira S, Seki M, Karimbux NY, et al. B and T lymphocytes are the primary sources of RANKL in the bone resorptive lesion of periodontal disease. *The American journal of pathology*. 2006;169(3):987-98.
101. Lang NP, Lindhe J, Berglundh T. *Clinical periodontology and implant dentistry*. Vol. 1: Basic concepts. Wiley Blackwell; 2015.
102. Abe T, Hajishengallis G. Optimization of the ligature-induced periodontitis model in mice. *J Immunol Methods*. 2013;394(1-2):49-54.
103. Anusavice KJ, Phillips RW, Shen C, Rawls HR. *Phillips' science of dental materials*. 12th ed. ed. St. Louis, Mo: Elsevier Saunders; 2013.
104. Jacobsen N. Pasientrelaterte faktorer ved dentale implantater. *Den norske tannlegeforenings tidende*. 2019;129(8):684-91.
105. Cutando A, Gomez-Moreno G, Arana C, Munoz F, Lopez-Pena M, Stephenson J, et al. Melatonin stimulates osteointegration of dental implants. *J Pineal Res*. 2008;45(2):174-9.
106. Guardia J, Gomez-Moreno G, Ferrera MJ, Cutando A. Evaluation of effects of topic melatonin on implant surface at 5 and 8 weeks in Beagle dogs. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2011;13(4):262-8.
107. Munoz F, Lopez-Pena M, Mino N, Gomez-Moreno G, Guardia J, Cutando A. Topical application of melatonin and growth hormone accelerates bone healing around dental implants in dogs. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2012;14(2):226-35.
108. El-Gammal MY, Salem AS, Anees MM, Tawfik MA. Clinical and Radiographic Evaluation of Immediate Loaded Dental Implants With Local Application of Melatonin: A Preliminary Randomized Controlled Clinical Trial. *J Oral Implantol*. 2016;42(2):119-25.
109. Cutando A, Arana C, Gomez-Moreno G, Escames G, Lopez A, Ferrera MJ, et al. Local application of melatonin into alveolar sockets of beagle dogs reduces tooth removal-induced oxidative stress. *J Periodontol*. 2007;78(3):576-83.
110. Koh TJ, DiPietro LA. Inflammation and wound healing: the role of the macrophage. *Expert Rev Mol Med*. 2011;13.
111. Jhajharia K, Parolia A, Shetty KV, Mehta LK. Biofilm in endodontics: a review. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*. 2015;5(1):1.
112. Bergenholtz G, Hörsted-Bindslev P, Reit C. *Textbook of endodontology*: John Wiley & Sons; 2013.
113. Saritekin E, Ureyen Kaya B, Asci H, Ozmen O. Anti-inflammatory and antiresorptive functions of melatonin on experimentally induced periapical lesions. *Int Endod J*. 2019;52(10):1466-78.
114. Mutoh N, Tani-Ishii N, Tsukinoki K, Chieda K, Watanabe K. Expression of toll-like receptor 2 and 4 in dental pulp. *J Endod*. 2007;33(10):1183-6.
115. Wadachi R, Hargreaves KM. Trigeminal nociceptors express TLR-4 and CD14: a mechanism for pain due to infection. *J Dent Res*. 2006;85(1):49-53.
116. Scheff JD, Calvano SE, Lowry SF, Androulakis IP. Modeling the influence of circadian rhythms on the acute inflammatory response. *J Theor Biol*. 2010;264(3):1068-76.

117. Guerrero-Gironés J, Alcaina-Lorente A, Ortiz-Ruiz C, Ortiz-Ruiz E, Pecci-Lloret MP, Rodríguez-Lozano FJ, et al. Melatonin as an Agent for Direct Pulp-Capping Treatment. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(3):1043.
118. Tosun S, Karataslioglu E. Does melatonin as an irrigation solution increase the adhesive quality of root canal sealer? 2019.
119. Nunes Oda S, Pereira Rde S. Regression of herpes viral infection symptoms using melatonin and SB-73: comparison with Acyclovir. *J Pineal Res*. 2008;44(4):373-8.
120. Soybir G, Topuzlu C, Odabaş O, Dolay K, Bilir A, Köksoy F. The effects of melatonin on angiogenesis and wound healing. *Surg Today*. 2003;33(12):896-901.
121. Norsk Helseinformatikk AS. Melatonin: Norsk Helseinformatikk AS; 2018 [updated 03.05.2018; cited 2019 01.11]. Available from: <https://nhi.no/livsstil/egenomsorg/melatonin/>.
122. Foley HM, Steel AE. Adverse events associated with oral administration of melatonin: A critical systematic review of clinical evidence. *Complement Ther Med*. 2019;42:65-81.
123. Liu J, Zhong R, Xiong W, Liu H, Eisenegger C, Zhou X. Melatonin increases reactive aggression in humans. *Psychopharmacology (Berl)*. 2017;234(19):2971-8.
124. Horn JR, Hansten PD. Get to Know an Enzyme: CYP1A2: *Pharmacy Times*; 2007 [cited 2019 03.11]. Available from: <https://www.pharmacytimes.com/publications/issue/2007/2007-11/2007-11-8279>.