

Received: 2007.10.15
Accepted: 2007.12.28
Published: 2008.01.22

Ochronna rola melatoniny podczas działania promieniowania UV*

The protective role of melatonin in the course of UV exposure

Ilona Iżykowska¹, Aleksandra Piotrowska¹, Marzena Podhorska-Okołów¹, Marek Cegielski¹, Maciej Zabel^{1,2}, Piotr Dzięgieł¹

¹ Katedra i Zakład Histologii i Embriologii Akademii Medycznej im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

² Katedra i Zakład Histologii i Embriologii im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie

Melatonina (Mel) jest hormonem syntetyzowanym głównie przez szyszynkę. Podstawową funkcją Mel w organizmie jest regulacja rytmów okołodobowych i sezonowych. Liczne są również prace opisujące jej antyoksydacyjne właściwości. Skóra i oczy są narządami szczególnie narażonymi na szkodliwe działanie promieniowania ultrafioletowego. Najbardziej niebezpieczne jest promieniowanie UVB (ultraviolet-B) i UVA (ultraviolet-A), ponieważ indukuje proces tworzenia wolnych rodników, a wskutek tego może inicjować proces apoptozy komórek. W wielu badaniach *in vivo* i *in vitro* wykazano, że funkcją Mel wytwarzanej w skórze i oku jest m.in. ochrona przed stresem oksydacyjnym wywołanym promieniowaniem UVB i UVA. Badania *in vitro*, w których naświetlano promieniowaniem UVB keratynocyty, fibroblasty i leukocyty wskazują, że Mel zarówno w dawkach farmakologicznych (10^{-3} i 10^{-4} M), jak i fizjologicznych (10^{-7} i 10^{-9} M) zmniejsza procent uszkodzonych komórek. Podobne działanie różnych dawek Mel jest prawdopodobnie wynikiem obecności receptorów melatoninowych (głównie MT1) w komórkach skóry i oka. Natomiast w badaniach *in vivo*, Mel podana dootrzewnowo lub nałożona na skórę przed naświetleniem UVB, chroni oko przed zmianami prowadzącymi do powstania katarakty, a skórę przed wystąpieniem rumienia. Wydaje się, że tylko wewnątrzkomórkowa Mel może chronić komórki przed skutkami naświetlania UVB. Mimo licznych prac opisujących wpływ promieniowania UVA na komórki skóry i oka brakuje badań, które sprawdzają właściwości antyoksydacyjne Mel w stosunku do komórek naświetlonych tym promieniowaniem.

Słowa kluczowe: melatonina • promieniowanie UV • skóra • oko

Summary

Melatonin (Mel) is a hormone synthesized mainly by the pineal gland. The principal function of Mel in the body involves the control of circadian and seasonal rhythms. Moreover, numerous reports document its anti-oxidative properties. Skin and eyes are particularly sensitive to the noxious influences exerted by UV exposure. The most dangerous radiation of the UVB (ultraviolet-B) and UVA (ultraviolet-A) range induces the formation of reactive oxygen species and thus stimulates the apoptosis of exposed cells. In numerous *in vivo* and *in vitro* studies, Mel produced in the skin and eye has been found to protect against the sequelae of UVB- and UVA-induced oxidative stress. In *in vitro* studies involving UVB irradiation of keratinocytes, fibroblasts, and leukocytes, Mel applied in both pharmacological (10^{-3} and 10^{-4} M) and physiological do-

* Praca naukowa finansowana ze środków na naukę MNiSW w latach 2005–2008 jako projekt badawczy Nr 2 P05A 111 29.

ses (10^{-7} and 10^{-9} M) decreased the fraction of damaged cells. A similar pattern of Mel action at various doses of Mel probably reflected the presence of melatonin receptors (mainly MT1 receptors) in skin and eye cells. Moreover, intraperitoneally administered Mel or Mel applied to the skin before UVB exposure protects against the development of cataract and erythema, respectively. Thus only intracellular Mel may protect cells against the effects of UVB exposure. Although there are numerous reports describing the effects of UVA on cells of the skin and eye, no studies have described the anti-oxidative properties of Mel in relation to UVA-irradiated cells.

Key words: melatonin • UV radiation • skin • eye

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_62/11532.pdf

Word count: 1620

Tables: 1

Figures: –

References: 39

Adres autorki: mgr Ilona Iżykowska, Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich, ul. Chałubińskiego 6a, 50-368 Wrocław; e-mail: ilona@hist.am.wroc.pl

Wykaz skrótów: **Mel** – melatonina; **UVB** – (ultraviolet-B); **UVA** – (ultraviolet-A); **RFT** – reaktywne formy tlenu; **RFA** – reaktywne formy azotu; $^1\text{O}_2$ – tlen singletowy; O_2^- – anion nadtlenu; H_2O_2 – nadtlenek wodoru; **OH \cdot** – rodnik hydroksylowy; **HOCl** – kwas podchloryny; **ONOO $^-$** – anionorodnik ponadtlenkowy; **NO** – tlenek azotu; **ROO \cdot** – rodnik nadtlenu; **AFMK** – N1-acetylo-N2-formylo-5-metoksykynuramina; **SOD** – dysmutaza ponadtlenkowa; **CAT** – katalaza; **GSH-Px** – peroksydaza glutationowa; **GSH** – glutation; **TPH** – hydroksylaza tryptofanu; **NAT** – N-acetylotransferaza serotoniny; **HIOMT** – hydroksyindolo-O-metylotransferaza; **M** – mol; **J** – dżul; **ROR α 4** – retinoid-related receptor α 4; **MDA** – malondialdehyd; **NAC-5HT** – N-acetyloserotonina.

WSTĘP

W organizmie kręgowców melatonina (Mel) jest syntetyzowana głównie przez szyszynkę a w mniejszych ilościach także w skórze, siatkówce, szpiku kostnym, przewodzie pokarmowym, mózgu, jajnikach i jądrach. Niezależnie od miejsca występowania, Mel pełni funkcję antyoksydacyjną, wychwytyjąc i unieczynnając reaktywne formy tlenu (RFT) i azotu (RFA), powstałe na skutek stresu oksydacyjnego (tlen singletowy – $^1\text{O}_2$, anion nadtlenu – O_2^- , nadtlenek wodoru – H_2O_2 , rodnik hydroksylowy – $\text{OH}\cdot$, kwas podchloryny – HOCl , anionorodnik ponadtlenkowy – ONOO^- , tlenek azotu – NO i rodnik nadtlenu – $\text{ROO}\cdot$). Unieczynnianie RFT i RFA przez Mel zachodzi w sposób kaskadowy, ponieważ metabolity Mel również dezaktywują wolne rodniki [36]. Głównymi metabolitami Mel są: 6-, 4- i 2- hydroksymelatonina oraz N1-acetylo-N2-formylo-5-metoksykynuramina (AFMK) [16,21]. Inne mechanizmy antyoksydacyjnego działania Mel to: zwiększanie aktywności enzymów antyoksydacyjnych (dysmutaza ponadtlenkowa – SOD, katalaza – CAT, peroksydaza glutationowa – GSH-Px), stymulowanie syntezy glutationu (GSH) i zapobieganie tworzeniu się wolnych rodników w mitochondriach. W badaniach *in vivo* wykazano, że Mel zmniejsza stopień uszkodzenia różnych narządów wywołany stresem oksydacyjnym w przypadku niedokrwienia (np. mózgu i serca), zatrucia metalami ciężkimi i toksynami bakteryjnymi oraz chorobą Alzheimera i Parkinsona [26].

PROMIENIOWANIE ULTRAFIOLETOWE

Promieniowanie UV dzieli się na trzy zakresy. Promieniowanie UVC (200–280 nm) prawie w całości jest pochłaniane przez warstwę ozonową atmosfery. Promieniowanie UVB (280–320 nm) oraz UVA (320–400 nm), które częściowo przenikają przez atmosferę, oddziałują na żywe organizmy. Promieniowanie UVB dociera głównie do naskórki, natomiast UVA jest bardziej przenikliwe i dociera do warstwy skóry właściwej oraz warstwy podskórnej [24]. Promieniowanie UVB jest pochłaniane przez keratynocyty i uczestniczy w tworzeniu RFT, głównie $^1\text{O}_2$ i $\text{OH}\cdot$. $\text{OH}\cdot$ jest jednym z najbardziej niebezpiecznych rodników, ponieważ reaguje z białkami, lipidami, kwasami nukleinowymi, a także osłabia system antyoksydacyjny komórki (enzymy antyoksydacyjne i nieenzymatyczne antyoksydanty: wit. C, wit. E i GSH) [7,27]. Wykazano, że Mel redukuje cytotoksyczne działanie megadawk UVB ($1,5 \text{ J/cm}^2$), ponieważ skutecznie dezaktywuje $^1\text{O}_2$ i $\text{OH}\cdot$ [15]. Chociaż UVA ma mniejszą energię oddziaływania na komórki w porównaniu z UVB, to ten zakres promieniowania bierze udział w inicjowaniu procesu karcynogenezy. Główne zmiany w skórze spowodowane naświetlaniem UVA to: degradacja tkanki łącznej, zmniejszenie ilości włókien kolagenowych oraz zwiększenie ilości zdegenerowanych włókien elastycznych [6]. Uszkodzenia keratynocytów i fibroblastów wywołane odpowiednio UVB i UVA mogą inicjować proces apoptozy tych komórek [6,7].

Tabela 1. Wpływ melatoniny na przeżywalność komórek naświetlonych UVB

Naświetlane komórki lub narządy	Dawka melatoniny (Mol)	Dawka UVB (J/cm ²)	Rezultaty
Keratynocyty HaCaT	10 ⁻³ i 10 ⁻⁴ M	50	↓ apoptoza komórek ↑ proliferacja komórek ↑ liczba kolonii komórek
Fibroblasty	10 ⁻⁹ M	140	↓ liczba komórek w fazie G1 cyklu komórkowego ↓ poziom RFT i MDA ↓ peroksydacja lipidów błony
Fibroblasty	10 ⁻⁷ M	70 i 140	↓ mRNA dekarboksylazy ornityny
Promonocytarne komórki białaczki (linia U937)	10 ⁻³ M	–	↓ apoptoza komórek ↑ wydajność mitochondriów

SYSTEM MELATONINERGICZNY SKÓRY I OKA

Skóra i oczy są narządami w największym stopniu narażonymi na szkodliwe działanie promieniowania UV. W wielu badaniach wykazano, że funkcją Mel wytwarzanej w skórze i oku jest ochrona przed promieniowaniem słonecznym zawierającym UVB i UVA [31,36].

W skórze Mel syntetyzowana jest głównie w keratynocytach, w śródbłonku naczyń krwionośnych oraz komórkach mieszków włosowych [36]. Duże ilości hormonu szyszynki wykryto również w keratynocytach linii HaCaT [16]. Poza tym o występowaniu Mel może świadczyć obecność enzymów biorących udział w jej biosyntezie (hydroksylaza tryptofanu – TPH, N-acetylotransferaza serotoniny – NAT i hydroksyindolo-O-metylotransferaza – HIOMT) w keratynocytach, fibroblastach i keratynocytach linii HaCaT [34]. W fotoreceptorach siatkówki na skutek zwiększonego metabolizmu komórkowego i absorpcji światła powstają duże ilości RFT, które są usuwane przez miejscowo syntetyzowaną Mel [18,23].

Nie do końca poznana jest funkcja receptorów melatoninowych w komórkach skóry i oka. Największą ekspresję wykazuje błonowy receptor melatoninowy MT1, który występuje w keratynocytach, fibroblastach, melanocytach, śródbłonku naczyń krwionośnych, komórkach gruczołów potowych, siatkówce oraz komórkach epitelialnych i keratocytach rogowki [25,29,30,34,36]. Za udziałem receptorów melatoninowych w zapobieganiu powstawania następstw stresu oksydacyjnego przemawiają wyniki badania, w którym zarówno stężenia fizjologiczne (10⁻⁸ M), jak i farmakologiczne (10⁻³ M) Mel chroniły leukocyty przed uszkodzeniami wywołanymi promieniowaniem UVB. Korzystny wpływ mniejszej dawki Mel może być prawdopodobnie wynikiem obecności receptora melatoninowego MT1 w błonie komórkowej leukocytów [15].

Promieniowanie UV oprócz bezpośredniego uszkodzenia składników komórki, może niekorzystnie wpływać na system melatoninergiczny i ekspresję genów receptorów melatoninowych. Dawka 5 mJ/cm² UVB hamuje ekspresję genu *TPH* w komórkach raka płaskokomórkowego i czerniaka oraz ekspresję genu *HIOMT* w komórkach raka płaskokomórkowego, co prowadzi do obniżenia stężenia Mel.

Mniej jednoznaczne wyniki otrzymano w przypadku błonowych i jądrowych receptorów melatoninowych. Dawka 100 mJ/cm² UVB zmniejszała ekspresję genu *MT1* w komórkach czerniaka i fibroblastach oraz ekspresję genu *RORα4* (receptora jądrowego) w keratynocytach linii HaCaT. Jednak ta sama dawka UVB zwiększa ekspresję genu *MT1* w melanocytach noworodka, *MT2* w keratynocytach, melanocytach i fibroblastach oraz *RORα4* w keratynocytach noworodka. Przedstawione wyniki mogą być punktem wyjścia dla nowego kierunku badań nad zapobieganiem chorobom skóry wywołanym promieniowaniem UV [32,33].

PRZEGLĄD BADAŃ IN VITRO

Na podstawie badań *in vitro* przeprowadzonych na komórkach skóry ustalono, że Mel może oddziaływać na nie w różnym stężeniu. W tabeli 1 zestawiono wyniki badań nad wpływem Mel na przeżywalność różnych komórek naświetlonych promieniowaniem UVB.

Promieniowanie UVB już w dawce 50 mJ/cm² powoduje, że 93% jąder keratynocytów linii HaCaT ulega fragmentacji. Po 24 godzinach od naświetlenia komórki zawierają jądra ze skondensowaną chromatyną, co wskazuje na inicjację procesu apoptozy. Skuteczną ochroną przed promieniowaniem UVB jest preinkubacja komórek z Mel w dawkach farmakologicznych (10⁻³ lub 10⁻⁴ M). Mel nie tylko zmniejsza liczbę komórek ulegających apoptozie, ale także stymuluje keratynocyty do proliferacji i tworzenia kolonii. Przejawia się to m.in. w częstszym wbudowaniu [³H]-tymidyny podczas syntezy DNA o 36,1% i 14,3% odpowiednio dla dawki 10⁻³ oraz 10⁻⁴ M Mel [17].

W innym badaniu wykazano, że promieniowanie UVB uszkadza także skórne fibroblasty. Po naświetleniu dawką 140 mJ/cm² przeżywa tylko 56% fibroblastów. Mała przeżywalność komórek jest spowodowana peroksydacją lipidów błony komórkowej, uszkodzeniem DNA i zahamowaniem proliferacji. Preinkubacja fibroblastów z Mel w stężeniu 10⁻⁹ M przeciwdziałała tym procesom i powoduje obniżenie poziomu RFT, MDA (malondialdehydu – wskaźnik peroksydacji lipidów) oraz liczby komórek zatrzymanych w fazie G1 cyklu komórkowego. W ten sposób liczba nieuszkodzonych, przeżywających fibroblastów wzrasta do 92,5% [15].

Promieniowanie UVB może zwiększać ekspresję genów, które są zaangażowane w proces karcynogenezy. Takim genem jest gen kodujący dekarboksylazę ornityny, która przekształca ornitynę w poliaminy. Zwiększony poziom poliamin stymuluje komórki do dalszej proliferacji, mimo mutacji DNA. Preinkubacja fibroblastów z Mel w stężeniu 10^{-7} M obniża poziom mRNA dekarboksylazy ornityny, a tym samym poziom poliamin [19].

W innym badaniu dowiedziono, że hormon szyszynki przeciwdziała apoptozie komórek wywołanej promieniowaniem UVB w wyniku poprawienia funkcji mitochondriów. Dodanie Mel w stężeniu 1 mM do promonocytnych komórek białaczki linii U937 przed ich naświetleniem, znacznie obniża liczbę komórek ulegających apoptozie do 16% w porównaniu z komórkami tylko naświetlanymi (36%). Mel wpływa na funkcję mitochondriów poprzez stabilizację potencjału błonowego, hamowanie uwalniania cytochromu c, usprawnienie transportu elektronów w łańcuchu oddechowym oraz ochronę błony przed peroksydacją lipidów. Jest to możliwe na skutek dezaktywacji RFT i aktywacji enzymów antyoksydacyjnych [20]. Mniej jednoznacznych wyników dostarcza badanie nad wpływem Mel i doksorubicyny na keratynocyty linii komórkowej. Podanie tylko Mel lub Mel razem z doksorubicyną zwiększa procent komórek ulegających apoptozie. W tym przypadku Mel nie przeciwdziała stresowi oksydacyjnemu wywołanemu podaniem antracykliny jak to się dzieje w badaniach z wykorzystaniem promieniowania UV jako czynnika stresowego [12].

Na przykładzie liposomów jako modelu błon komórkowych zaobserwowano, że cząsteczki Mel bez trudu przenikają do wnętrza liposomów. Zdolność przenikania Mel przez błony można wytłumaczyć amfipatyczną budową jej cząsteczki. Te właściwości pozwalają Mel na wychwytywanie wolnych rodników w dwuwarstwie lipidowej, co zapobiega peroksydacji lipidów po naświetleniu promieniowaniem UVC [28].

PRZEGLĄD BADAŃ *IN VIVO*

W przypadku badań *in vivo* nad wpływem UVB i UVA na skórę człowieka obserwuje się m.in. wzrost apoptozy komórek [24,38]. Po 12 godzinach od zakończenia naświetlania skóry pacjentów dawką UVB cztery razy większą od minimalnej dawki wywołującej rumień, wzrasta liczba keratynocytów ze zmianami apoptotycznymi. Świadczy o tym nasilona ekspresja białek proapoptotycznych (p53, kaspaza 3 i DN-aza I) w tych komórkach [24]. Mel może chronić komórki skóry przed apoptozą w wyniku unieczynniania RFT oraz hamowania syntezy czynników prozapalnych. Najlepsze efekty otrzymuje się poprzez nałożenie Mel na skórę 15 min przed naświetleniem [4,13] lub natychmiast po naświetleniu [3,9], co zapobiega powstawaniu rumienia. Nie ma żadnego rezultatu po podaniu Mel 30 min, 1 lub 2 godz. po ekspozycji skóry na UVB. Ta zależność może wskazywać, że prawdopodobnie to wewnątrzkomórkowa

Mel odpowiada za ochronę przed RFT [17]. W zapobieganiu przed powstawaniem rumienia jeszcze lepsze wyniki uzyskano podając Mel razem z wit. C i E. Wymienione substancje mogą działać synergistycznie z Mel i razem hamować dezaktywację enzymów antyoksydacyjnych [10]. Natomiast w literaturze brakuje informacji o wpływie Mel na komórki naświetlane promieniowaniem UVA.

Mel może chronić oko przed szkodliwym działaniem promieniowania UV na wiele sposobów: wychwytyując wolne rodniki, stymulując aktywność enzymów antyoksydacyjnych i poprawiając funkcję mitochondriów [31]. Dowodów dostarczają badania na szczurach naświetlanych UVB z jednoczesnym podaniem dootrzewnowo Mel lub N-acetyloserotoniny (NAC-5HT) w dawce 4 mg/kg m.c. NAC-5HT jest pośrednim związkiem tworzonym podczas syntezy Mel. Wykazano, że Mel obniża wewnątrzkomórkowe stężenie jonów Ca^{2+} i Mg^{2+} , a tym samym chroni przed obrzękiem oraz śmiercią komórki nabłonka soczewki. Zarówno Mel jak i NAC-5HT zwiększają aktywność SOD i GSH-Px oraz poziom GSH w komórkach soczewki. Odwrotnie – oba związki obniżają poziom MDA. Otrzymane wyniki dowodzą, że Mel i NAC-5HT chronią soczewkę przed skutkami stresu oksydacyjnego, a tym samym mogą hamować rozwój katarakty [2,5,39]. W komórkach epitelialnych rogówki królika naświetlonych promieniowaniem UVB, Mel także zapobiega peroksydacji błon komórki oraz poprawia czynność mitochondriów poprzez udział w wychwytywaniu $O_2^{\cdot -}$ [8].

PERSPEKTYWY ZASTOSOWANIA MELATONINY

Ze względu na właściwości ochronne, coraz częściej rozważa się możliwość stosowania Mel w kremach przeciwsłonecznych [1,14]. Problemem pozostaje jednak szybki rozkład tego hormonu przez światło. Dlatego dobrym rozwiązaniem jest stosowanie nośników dla Mel, które zmniejszyłyby stopień jej degradacji. Przykładem takich nośników są liposomy i liposfery, które ułatwiają Mel przenikanie do niższych warstw skóry, chronią jej cząsteczki przed rozkładem oraz ułatwiają powolne uwalnianie i utrzymywanie jej w dużym stężeniu w skórze [11,37]. Mel prawdopodobnie będzie można także w przyszłości stosować w fotodynamicznej terapii nowotworów skóry, ponieważ – jak zaobserwowano w jednym z badań – podczas naświetlania laserem Mel wykazuje właściwości prooksydacyjne w wyniku zwiększenia wydzielania 1O_2 [22].

PODSUMOWANIE

Biorąc pod uwagę wszystkie przedstawione informacje można stwierdzić, że skóra i oczy dzięki antyoksydacyjnym właściwościom Mel są w naturalny sposób chronione przed działaniem UVB oraz UVC. Aby skuteczniej zabezpieczyć organizm przed stresem oksydacyjnym indukowanym promieniowaniem UV, są potrzebne dalsze badania nad wpływem Mel na komórki naświetlane UVA.

PIŚMIENICTWO

[1] Abdulghani A.A., Sherr A., Shirin S et al: Effect of topical creams containing vitamin C, a copper-binding peptide cream and melatonin compared with tretinoin on the ultrastructure of normal skin. *Dis. Manag.*, 1998; 1: 136–141

[2] Anwar M.M., Moustafa M.A.: The effect of melatonin on eye lens of rats exposed to ultraviolet radiation. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.*, 2001; 129: 57–63

- [3] Bangha E., Elsner P., Kistler G.S.: Suppression of UV-induced erythema by topical treatment with melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine). A dose response study. *Arch. Dermatol. Res.*, 1996; 288: 522–526
- [4] Bangha E., Elsner P., Kistler G.S.: Suppression of UV-induced erythema by topical treatment with melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine). Influence of the application time point. *Dermatology*, 1997; 195: 248–252
- [5] Bardak Y.: Effect of melatonin on lenticular calcium and magnesium in rats exposed to ultraviolet radiation. *Ophthalmologica*, 2000; 214: 350–353
- [6] Bernerd F., Asselineau D.: UVA exposure of human skin reconstructed *in vitro* induces apoptosis of dermal fibroblasts: subsequent connective tissue repair and implications in photoaging. *Cell Death Differ.*, 1998; 5: 792–802
- [7] Bernerd F., Asselineau D.: Successive alteration and recovery of epidermal differentiation and morphogenesis after specific UVB-damages in skin reconstructed *in vitro*. *Dev. Biol.*, 1997; 183: 123–138
- [8] Ciuffi M., Pisanello M., Pagliai G., Raimondi L., Franchi-Micheli S., Cantore M., Mazzetti L., Failli P.: Antioxidant protection in cultured corneal cells and whole corneas submitted to UV-B exposure. *J. Photochem. Photobiol. B*, 2003; 71: 59–68
- [9] Dreher F., Denig N., Gabard B., Schwindt D.A., Maibach H.I.: Effect of topical antioxidants on UV-induced erythema formation when administered after exposure. *Dermatology*, 1999; 198: 52–55
- [10] Dreher F., Gabard B., Schwindt D.A., Maibach H.I.: Topical melatonin in combination with vitamins E and C protects skin from ultraviolet-induced erythema: a human study *in vivo*. *Br. J. Dermatol.*, 1998; 139: 332–339
- [11] Dumble V., Mishra D., Asthana A., Jain N.K.: Transdermal delivery of a pineal hormone: melatonin via elastic liposomes. *Biomaterials*, 2006; 27: 3491–3496
- [12] Fic M., Podhorska-Okolow M., Dziegiel P., Gebarowska E., Wysocka T., Drag-Zalesinska M., Zabel M.: Effect of melatonin on cytotoxicity of doxorubicin toward selected cell lines (human keratinocytes, lung cancer cell line A-549, laryngeal cancer cell line Hep-2). *In Vivo*, 2007; 21: 513–518
- [13] Fischer T., Bangha E., Elsner P., Kistler G.S.: Suppression of UV-induced erythema by topical treatment with melatonin. Influence of the application time point. *Biol. Signals Recept.*, 1999; 8: 132–135
- [14] Fischer T.W., Greif C., Fluhr J.W., Wigger-Alberti W., Elsner P.: Percutaneous penetration of topically applied melatonin in a cream and an alcoholic solution. *Skin Pharmacol. Physiol.*, 2004; 17: 190–194
- [15] Fischer T.W., Scholz G., Knöll B., Hipler U.C., Elsner P.: Melatonin suppresses reactive oxygen species induced by UV irradiation in leukocytes. *J. Pineal Res.*, 2004; 37: 107–112
- [16] Fischer T.W., Sweatman T.W., Semak I., Sayre R.M., Wortsman J., Slominski A.: Constitutive and UV-induced metabolism of melatonin in keratinocytes and cell-free systems. *FASEB J.*, 2006; 20: 1564–1566
- [17] Fischer T.W., Zbytek B., Sayre R.M., Apostolov E.O., Basnakian A.G., Sweatman T.W., Wortsman J., Elsner P., Slominski A.: Melatonin increases survival of HaCaT keratinocytes by suppressing UV-induced apoptosis. *J. Pineal Res.*, 2006; 40: 18–26
- [18] Iuvone P.M., Tosini G., Pozdeyev N., Haque R., Klein D.C., Chaurasia S.S.: Circadian clocks, clock networks, arylalkylamine N-acetyltransferase, and melatonin in the retina. *Prog. Retin. Eye Res.*, 2005; 24: 433–456
- [19] Lee K.S., Lee W.S., Suh S.I., Kim S.P., Lee S.R., Ryoo Y.W., Kim B.C.: Melatonin reduces ultraviolet-B induced cell damages and polyamine levels in human skin fibroblasts in culture. *Exp. Mol. Med.*, 2003; 35: 263–268
- [20] Luchetti F., Canonico B., Curci R., Battistelli M., Mannello F., Papa S., Tarzia G., Falcieri E.: Melatonin prevents apoptosis induced by UV-B treatment in U937 cell line. *J. Pineal Res.*, 2006; 40: 158–167
- [21] Maharaj D.S., Anoopkumar-Dukie S., Glass B.D., Antunes E.M., Lack B., Walker R.B., Daya S.: The identification of the UV degradants of melatonin and their ability to scavenge free radicals. *J. Pineal Res.*, 2002; 32: 257–261
- [22] Maharaj D.S., Molell H., Antunes E.M., Maharaj H., Maree D.M., Nyokong T., Glass B.D., Daya S.: Melatonin generates singlet oxygen on laser irradiation but acts as a quencher when irradiated by lamp photolysis. *J. Pineal Res.*, 2005; 38: 153–156
- [23] Marchiafava P.L., Longoni B.: Melatonin as an antioxidant in retinal photoreceptors. *J. Pineal Res.*, 1999; 26: 184–189
- [24] Mass P., Hoffmann K., Gambichler T., Altmeyer P., Mannherz H.G.: Premature keratinocyte death and expression of marker proteins of apoptosis in human skin after UVB exposure. *Arch. Dermatol. Res.*, 2003; 295: 71–79
- [25] Meyer P., Pache M., Loeffler K.U., Brydon L., Jockers R., Flammer J., Wirz-Justice A., Savaskan E.: Melatonin MT-1-receptor immunoreactivity in the human eye. *Br. J. Ophthalmol.*, 2002; 86: 1053–1057
- [26] Reiter R.J.: Melatonin: clinical relevance. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2003; 17: 273–285
- [27] Ryoo Y.W., Suh S.I., Mun K.C., Kim B.C., Lee K.S.: The effects of the melatonin on ultraviolet-B irradiated cultured dermal fibroblasts. *J. Dermatol. Sci.*, 2001; 27: 162–169
- [28] Saija A., Tomaino A., Trombetta D., Pellegrino M.L., Tita B., Caruso S., Castelli F.: Interaction of melatonin with model membranes and possible implications in its photoprotective activity. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2002; 53: 209–215
- [29] Savaskan E., Wirz-Justice A., Olivieri G., Pache M., Kräuchi K., Brydon L., Jockers R., Müller-Spahn F., Meyer P.: Distribution of melatonin MT1 receptor immunoreactivity in human retina. *J. Histochem. Cytochem.*, 2002; 50: 519–526
- [30] Scher J., Wankiewicz E., Brown G.M., Fujieda H.: MT1 melatonin receptor in the human retina: expression and localization. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2002; 43: 889–897
- [31] Siu A.W., Maldonado M., Sanchez-Hidalgo M., Tan D.X., Reiter R.J.: Protective effects of melatonin in experimental free radical-related ocular diseases. *J. Pineal Res.*, 2006; 40: 101–109
- [32] Slominski A., Fischer T.W., Zmijewski M.A., Wortsman J., Semak I., Zbytek B., Slominski R.M., Tobin D.J.: On the role of melatonin in skin physiology and pathology. *Endocrine*, 2005; 27: 137–148
- [33] Slominski A., Pisarchik A., Semak I., Sweatman T., Wortsman J., Szczesniowski A., Slugocki G., McNulty J., Kauser S., Tobin D.J., Jing C., Johansson O.: Serotonergic and melatonergic systems are fully expressed in human skin. *FASEB J.*, 2002; 16: 896–898
- [34] Slominski A., Pisarchik A., Zbytek B., Tobin D.J., Kauser S., Wortsman J.: Functional activity of serotonergic and melatonergic systems expressed in the skin. *J. Cell. Physiol.*, 2003; 196: 144–153
- [35] Slominski A., Wortsman J., Tobin D.J.: The cutaneous serotonergic/melatonergic system: securing a place under the sun. *FASEB J.*, 2005; 19: 176–194
- [36] Tan D.X., Reiter R.J., Manchester L.C., Yang M.T., El-Sawi M., Sainz R.M., Mayo J.C., Kohen R., Allegra M., Hardeland R.: Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger. *Curr. Top. Med. Chem.*, 2002; 2: 181–197
- [37] Tursilli R., Casolari A., Iannuccelli V., Scalia S.: Enhancement of melatonin photostability by encapsulation in lipospheres. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2006; 40: 910–914
- [38] von Kobyletzki G., Heine O., Stephan H., Pieck C., Stücker M., Hoffmann K., Altmeyer P., Mannherz H.G.: UVA1 irradiation induces deoxyribonuclease dependent apoptosis in cutaneous T-cell lymphoma *in vivo*. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.*, 2000; 16: 271–277
- [39] Yildirim N., Özer A., Inal M., Angin K., Yurdakul S.: The effect of N-acetyl serotonin on ultraviolet-radiation induced cataracts in rats. *Ophthalmologica*, 2003; 217: 148–153