

## Antioxidants in treatment of toxic liver damage in dogs and cats

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

The aim of this paper was to present a novel approach to the treatment of toxic liver damage in small animals. Consequences of oxidative stress, which often underlies the liver damage, can be balanced by using some antioxidants, like mannitol and glutathione. There is also melatonin (MT), that can be used as an antioxidant in companion animals. Many studies have shown that it is more effective in reducing OH than glutathione, the strong endogenous antioxidant and more effectively inactivates the radicals than mannitol. Moreover, it has been demonstrated that MT gene expression correlates positively with activity of SOD, GPx and catalase – the major antioxidant enzymes. The use of MT in small animals clinic is presented and discussed.

**Keywords:** oxidative liver damage, antioxidants, melatonin, treatment, dog, cat.

Hepatocyty należą do komórek szczególnie podatnych na toksyczne uszkodzenia. Komórki wątroby są chronione przez enzymatyczne i nieenzymatyczne mechanizmy obronne (1). Wszystkie organizmy tlenowe zależne są od tlenu ( $O_2$ ), który jest niezbędny m.in. do wytwarzania energii w postaci ATP. Pożyteczne dla organizmu zużycie pochłoniętego tlenu wynosi około 95%, reszta podlega niekorzystnej przemianie, w wyniku której powstają wolne rodniki, które odpowiadają za uszkodzenia wielu składników komórki, w tym również w hepatocytach (2).

## Leczenie toksycznych uszkodzeń wątroby u psów i kotów przy użyciu antyoksydantów

Rafał Zań, Zbigniew Roliński, Cezary Kowalski, Artur Burmańczuk

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

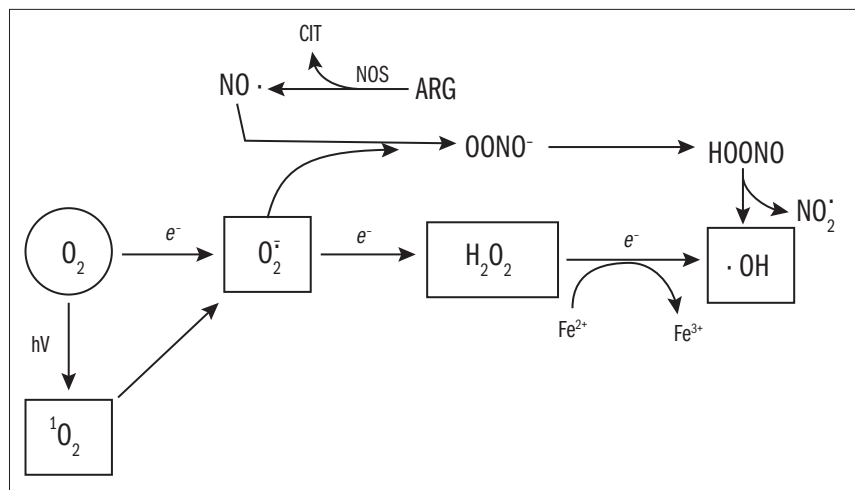
Podstawowa droga powstawania wolnych rodników przebiega w wyniku redukcji jednego, dwóch lub trzech elektronów ( $e^-$ ), prowadząc odpowiednio do wytworzenia anionorodnika ponadtlenkowego ( $O_2^-$ ), nadtlenku wodoru ( $H_2O_2$ ) i rodnika wodorotlenkowego (hydroksylowego;  $\cdot OH$ ). Schemat powstawania wolnych rodników został przedstawiony na **ryc. 1** (3). Anionorodnik ponadtlenkowy pojawia się zwłaszcza w komórkach fagocytujących i w mitochondriach intensywnie wytwarzających ATP. Anionorodnik  $O_2^-$  tworzy się również przy autooksydacji amin katecholowych, soli kwasu foliowego oraz wielu toksyn i leków. Jest on związkiem toksycznym, przy czym jego obecność sprzyja powstawaniu innych, szczególnie reaktywnych rodników. Anionorodnik ten ulega redukcji pod wpływem działania dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), w wyniku czego powstaje nadtlenek wodoru ( $H_2O_2$ ), który odznacza się mniejszą toksycznością, jeżeli nie gromadzi się w komórkach w dużych ilościach. Jednak  $H_2O_2$  charakteryzuje się stosunkowo długim okresem półtrwania ( $>4$  s) i dobrą przenikalnością przez błonę komórkową, co może przyczynić się do przenoszenia powstałych uszkodzeń wywołanych przez wolne rodniki na inne obszary komórkowe. Rodnik

wodorotlenkowy jest najbardziej reaktywny i toksyczny. Przyjmuje się, że uszkodzenia wywołane przez OH w stosunku do sąsiadujących z nim cząsteczek (np. RNA, DNA, lipidy, białka, węglowodany) stanowią około 50% uszkodzeń spowodowanych w komórkach przez wolne rodniki (3). W hepatocytach rozwinięte są mechanizmy, które w różny sposób mogą je zabezpieczać przed uszkodzeniem przez wolne rodniki. Ochronne działanie może zachodzić zarówno na drodze enzymatycznej, jak i nieenzymatycznej. Enzymatyczne antyoksydanty to: dysmutaza ponadtlenkowa SOD, katalaza (CAT), peroksydaza glutationu (GPx), transferaza glutationu (GST; 1). Do nieenzymatycznych antyoksydantów należą:

- antyoksydanty endogenne, np. glutation, bilirubina, cysteina, tauryna, melatonina, kwas moczowy;
- środki odżywcze, np. witamina E, witamina A,  $\beta$ -karoten, witamina C;
- środki przejściowo wiążące jony metali – ceruloplazmina, laktoferyna, transferyna, ferrytyna;
- inne antyoksydanty: ubichinon (koenzym  $Q_{10}$ ), fitoestrogeny i flawonoidy (4).

### Stany stresu oksydacyjnego

Stan organizmu związany z nadmiernym tworzeniem się reaktywnych form tlenu określa się jako stres oksydacyjny. Wskazuje on na zaburzenia równowagi pomiędzy czynnikami prooksydacyjnymi a obronnym systemem antyoksydacyjnym. Stres oksydacyjny może być wywołany przez różne czynniki, zarówno patologiczne, jak i niepatologiczne. Stres oksydacyjny nasila się np. w przypadkach chorób wątroby, zaburzeniach krążenia krwi i uszkodzenia mitochondriów wywołanych refluksiem kwasów żółciowych (1). Do antyoksydantów, stosowanych dotychczas w chorobach wątroby, należą m.in. S-adenozylometionina (SAMe), sylimaryna (sylimarina), witaminy E i C oraz cynk. Jakkolwiek istnieją dotychczas ograniczone dowody na ich skuteczność w obserwacjach klinicznych, to jednak stosowanie antyoksydantów jako uzupełnienie innych leków stosowanych w ostrych



**Ryc. 1.** Drogi wytwarzania wolnych rodników (3). Redukcja jednego, dwóch lub trzech elektronów ( $e^-$ ) prowadzi do powstania odpowiednio anionorodnika ponadtlenkowego ( $O_2^-$ ), nadtlenku wodoru ( $H_2O_2$ ) i rodnika wodorotlenkowego ( $\cdot OH$ ). Połączenie ( $O_2$ ) z tlenkiem azotu ( $NO^*$ ) prowadzi do wytworzenia anionu nadtlenuazotynowego (ONOO)

i przewlekłych hepatopatiach wydaje się bezpieczne i w miarę skuteczne.

### S-adenozylometionina (SAME)

Jest to endogenny związek powstający w wyniku przyłączenia grupy adenozyłowej – adenozylo-5-trifosforanu (ATP) do atomu siarki metioniny z udziałem enzymu syntetazy SAME. Aktywność S-adenozylometioniny syntetazy ulega obniżeniu w wielu chorobach wątroby, powodując spadek jej poziomu w hepatocytach. S-adenozylometionina indukuje trzy ważne procesy metaboliczne: transmetylację, transsulfurację i aminopropylację. Prawie 85% S-adenozylometioniny jest wykorzystywane do indukcji reakcji transmetylacji.

#### Transmetylacja

Jest to proces, podczas którego pewne związki oddają lub przenoszą grupę metylową ( $-CH_3$ ) do innych związków. Reakcje przenoszenia grup metylowych katalizują enzymy – metylotransferazy. Donorem grupy metylowej jest najczęściej S-adenozylometionina, która zazwyczaj dostarcza grupę metylową dla fosfolipidów, kwasów nukleinowych i białek. Istotne znaczenie reakcji transmetylacji wynika z jej udziału w syntezie fosfolipidów ściany komórkowej, zapewniając sprawne funkcjonowanie komórek.

#### Transsulfuracja

W niektórych reakcjach transmetylacji S-adenozylometionina, oddając grupę metylową jest przekształcana w S-adenozylhomocysteinę. Następnie w wyniku transsulfuracji S-adenozylhomocysteina jest przekształcana poprzez homocysteinę i cysteinę w glutation, siarczany i taurynę. Stosowanie S-adenozylometioniny u psów i kotów na drodze transsulfuracji zapewnia wzrost poziomu glutationu w wątrobie i krwinkach czerwonych. Wykazano, że glutation stanowi ważny czynnik w obronnym systemie antyoksydacyjnym. W badaniach przeprowadzonych na zwierzętach z przypadkami *hepatitis* (45 psów i 11 kotów) wykazano, że u 51% psów i 82% kotów występuje obniżony poziom glutationu w wątrobie (5).

#### Aminopropylacja

Na drodze aminopropylacji S-adenozylometionina ulega dekarboksylacji, prowadząc do tworzenia się poliamin (np. spermina, spermidyna). Poliaminy mogą nasilać syntezę DNA, białek i proteoglikanu, związków niezbędnych do normalnego wzrostu i odnowy hepatocytów (6).

### Wskazania do stosowania S-adenozylometioniny

Wskazania do stosowania S-adenozylometioniny obejmują praktycznie wszystkie choroby wątroby, ale przede wszystkim toksyczne uszkodzenia wątroby i zatrzymanie żółci. Stwierdzono, że S-adenozylometionina zmniejsza toksyczny efekt oksydacyjny sterydów stosowanych u psów i kotów (7, 8). Ponadto, wykazano lecznicze działanie S-adenozylometioniny w przypadkach zatrucia paracetamolem u kotów (9). Zalecaną dawką S-adenozylometioniny jest 20 mg/kg m.c., podawana na czczo jeden raz na dobę (nazwy handlowe produktu: Denamarin, Zentonil, Hepatosyl Plus).

### Sylimaryna (sylimarin, sylimarol, legalon)

Jest to ekstrakt z ostropestu plamistego (*Silybum marianum*) o przypisywanym działaniu ochronnym na komórki wątroby. Sylimaryna stanowi zespół 4 flawonolignanów – sylibiny, sylidiaminy, sylikrystyny i isosylibiny (10). Największą aktywnością biologiczną odznacza się sylibina. Najwyższą zawartość sylimaryny występuje w owocach, nasionach i liściach tej rośliny. Standardowy ekstrakt powinien zawierać 60–70% sylimaryny. Dostępność biologiczna najaktywniejszego izomeru (sylibina) jest stosunkowo niska z powodu niecałkowitej wchłaniania z przewodu pokarmowego. Sylimaryna odznacza się silnym działaniem antyoksydacyjnym i przeciwzapalnym w wyniku hamowania aktywności oksydazy lipidowej (ogranicza utlenianie lipidów) i hamowaniu syntezy leukotrienów. Sylimaryna ma powodować również wzrost wydzielania żółci. Wykazano osłaniające działanie sylimaryny w zatruciu muchomorem sromotnikowym (*Amanita phalloides*) u psów (11) oraz innymi modelowymi substancjami toksycznymi, takimi jak czterochlorek węgla i detergenty (12).

Dostępne na rynku produkty handlowe stosowane u ludzi różnią się zawartością aktywnych biologicznie składników. Na rynku polskim w aptekach dostępny jest produkt wydawany bez przepisu lekarza pod nazwą Sylimarol 35 i 70 mg w postaci tabletek drażowanych, zawierających wyciąg suchy z łusek ostropestu plamistego. Podobny produkt z sylimaryną występuje na rynku niemieckim pod nazwą Legalon SIL. Obydwa produkty są zalecane jako środki wspomagające w różnych chorobach wątroby. Sylimaryna jest związkiem mało toksycznym i bezpiecznym. Może być zalecana jako lek wspomagający w toksycznych uszkodzeniach wątroby, w przewlekłych stanach zapalnych i marskości wątroby (12). Dawki preparatu Sylimarol zalecane

u ludzi to jedna drażetka à 35 lub 70 mg, 3 razy dziennie po jedzeniu, do stosowania przez 2–4 tygodnie. Przenosząc te zalecenia na inny gatunek, można uznać za bezpieczne podawanie psom o masie ciała do 30 kg – drażetek à 35mg i o masie powyżej 30 kg – drażetek à 70 mg, trzy razy dziennie, do przewlekłego stosowania. O bezpieczeństwie stosowania produktu Sylimarol świadczy fakt, że jest on zalecany u dzieci od 12 roku życia. Według Löschera i wsp. (12) produkt leczniczy z sylimaryną pod nazwą handlową Legalon SIL zaleca się stosować u małych zwierząt w dawkach 30–40 mg/kg m.c., 2–3 razy dziennie.

Ostatnio ukazał się na rynku europejskim produkt pod nazwą Siliphos, stanowiący połączenie izomeru – sylibiny z fosfatydylocholiną, który odznacza się 3 do 5 razy większą dostępnością biologiczną w porównaniu do sylimaryny. Na rynku amerykańskim pojawiły się leki, stanowiące połączenie izomeru – sylibiny, fosfatydylocholinę i S-adenozylometioniny (Denamarin, Nutramax, Edgewood).

### Witamina E ( $\alpha$ -tokoferol)

Wśród 8 izomerów witaminy E występujących w przyrodzie najbardziej aktywnie biologicznie jest  $\alpha$ -tokoferol. Witamina E jest syntetyzowana w roślinach i magazynowana głównie w olejach roślinnych, orzechach laskowych, nasionach i ziarnach zbóż. Witamina ta jest rozpuszczalnym w lipidach silnym antyoksydantem. Dzięki umiejscowieniu w bogatych w lipidy błonach komórkowych chroni komórki przynajmniej na drodze dwóch mechanizmów. Po pierwsze hamuje peroksydację lipidów na etapie inicjacji oraz etapie powstawania nadtlenuków w wyniku przekazywania tym cząsteczkom atomu wodoru. Po drugie witamina E usuwa wolne rodniki, najprawdopodobniej tlen singletowy (13, 14, 15). Dzięki temu witamina E jest szeroko stosowana w profilaktyce wielu chorób u ludzi i zwierząt samodzielnie lub w postaci preparatów wielowitaminowych;  $\alpha$ -tokoferol jest zalecany również w przypadkach zatrucia miedzią, ponieważ stwierdzono, że w takich przypadkach następuje spadek ilości witaminy E w hepatocytach. W chorobach z zastojem żółci zaleca się u psów podawanie witaminy E w dawce 10–15 j.m./kg m.c./24 h.

### Cynk

Cynk jest mikroelementem, którego podstawowym źródłem w diecie są tkanki zwierzęce i włókniste surowce roślinne. Tkanki zwierzęce zawierają w przybliżeniu 20–30 mg cynku/kg m.c., przy czym najwyższe stężenia występują w gruczole

krokovym, kościach, mięśniach szkieletowych i skórze. Wysoka zawartość w pożywieniu żelaza, miedzi i wapnia hamuje wchłanianie cynku z przewodu pokarmowego. Pierwiastek ten jest strukturalnym i funkcjonalnym składnikiem wielu enzymów. Cynk uczestniczy w wielu metabolicznych procesach, takich jak przemiany kwasów nukleinowych, metabolizm węglowodanów, synteza białek, gojenie ran oraz wzrost organizmu i reprodukcja. U psów przy przewlekłych chorobach wątroby wykazano niedobór cynku (2). W schorzeniach wątroby cynk jest stosowany w celu ograniczenia wchłaniania miedzi z przewodu pokarmowego i redukcji jej wychwytu przez wątrobę, a ponadto jako czynnik antyoksydacyjny i ograniczający powstawanie włókniaków (1).

### Witamina C

Psy i koty oraz zwierzęta hodowlane pokrywają swoje zapotrzebowanie na witaminę C w wyniku syntezy własnej. Jedynie naczelnie i świnie morskie, nietoperze owocożerne i niektóre ryby nie są zdolne do syntezy tej witaminy w następstwie genetycznego braku właściwego szlaku enzymatycznego. Witamina C występuje w naturze w znacznych ilościach w owocach cytrusowych, wielu jarzynach i tkance mięśniowej. W organizmie wykazuje ona działanie antyoksydacyjne. Stwierdzono jednak, że w przypadkach zatrucia żelazem lub miedzią witamina C może zwiększać stopień uszkodzenia wątroby w wyniku przyspieszenia utleniania lipidów (16).

### Melatonina (N-acetylo-5-metoksytryptamina, MT)

Melatonina, neurohormon powstający w szyszynce, reguluje cały szereg procesów metabolicznych i endokryalnych u wszystkich przedstawicieli świata zwierzęcego. Syntetyczny analog melatoniny stosowany doustnie w postaci tabletek znalazł w lecznictwie wiele zastosowań. U ludzi przede wszystkim w zaburzeniach snu i łagodzeniu skutków przekraczania stref czasowych, a także w próbach leczenia niektórych chorób nowotworowych oraz próbach zahamowania rozwoju choroby Alzheimera (3, 17). W leczeniu zwierząt, melatonina znajduje zastosowanie u psów i kotów w stanach lękowych wywołanych nadmiernym hałasem (np. grzmoty, fajerwerki), w zapobieganiu stanom stresu w wyniku transportu lub innych zaburzeniach behawioralnych (18, 19). Stwierdzone w ostatnich latach silne działanie antyoksydacyjne melatoniny stwarza możliwość rozszerzenia zastosowań terapeutycznych z syntetycznym analogiem tego hormonu u małych zwierząt.

Przeprowadzone badania wykazały, że melatonina jest 5-krotnie efektywniejsza w zmiataniu OH niż silny endogeny antyutleniacz – glutation i 10-krotnie bardziej skuteczna w unieszkodliwianiu tego rodnika niż mannitol (20). Ponadto wykazano, że melatonina stymuluje ekspresję genów lub zwiększa aktywność głównych enzymów antyoksydacyjnych SOD, GPx i katalazy (21). Fakt, że melatonina należy do najbardziej efektywnych zmiataczy wolnych rodników został najpierw stwierdzony przez zespół naukowców z pracowni Reitera (4). Te pionierskie badania zostały następnie potwierdzone wielokrotnie na różnych modelach doświadczalnych *in vivo*. Wykazano na przykład antyoksydacyjne działanie melatoniny u szczurów z toksycznym uszkodzeniem wątroby wywołane dootrzewnowym podaniem bakteryjnych lipopolisacharydów (LPS). Doświadczalne wykorzystanie LPS jako modelu wynika z faktu, że ten toksyczny czynnik powoduje uszkodzenie wielu składników komórek wątroby przez powstające wolne rodniki (22). Podanie LPS w grupie kontrolnej szczurów powodowało obserwowany po 6 godzinach od iniekcji istotny wzrost peroksydacji lipidów, podwyższenie stężenia całkowitego glutationu (GSH) i utlenionej formy glutationu (GSSG). W grupie doświadczalnej podanie dootrzewnowe LPS i MT (1 mg/kg m.c.) na 6 godzin przed uspieniem szczurów powodowało całkowite zniesienie wywołanej podaniem LPS peroksydacji lipidów oraz odwrócenie wzrostu całkowitego GSH i stężenia GSSG.

Badania histologiczne wykazały znaczące uszkodzenia wątroby po LPS w grupie kontrolnej, a podanie melatoniny w grupie doświadczalnej przeciwdziałało uszkodzeniom hepatocytów (23). Również przy doświadczalnym uszkodzeniu komórek wątroby przez wolne rodniki w następstwie wywołania stanu niedokrwienia w tym perfundowanym narządzie, podanie melatoniny chroniło przed szkodliwym działaniem reaktywnych form tlenu (24). Doświadczalnie wykazano również u szczurów, że melatonina niweluje skutki stresu oksydacyjnego wywołanego podawaniem doksorubicyny (adrianomycyny), stosowanej w chemioterapii przeciwnowotworowej (25), a także obniża skutki stresu oksydacyjnego wywołanego podaniem aflatoksyny  $\beta$  w paszy u młodych brojlerów kurzych (26). W badaniach na ludziach stwierdzono, że zaburzenia w równowadze pomiędzy stresem oksydacyjnym a potencjałem antyoksydacyjnym organizmu może stanowić ważny czynnik w rozwoju astmy oskrzelowej i przewlekłej obturacyjnej choroby płuc.

Ocenę statusu czynników oksydacyjnych i antyoksydacyjnych u badanych pacjentów oparto na oznaczaniu

w erytrocytach: poziomu dialdehydu malonowego, aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), aktywności peroksydazy glutationowej (GPX), aktywności reduktazy glutationowej i aktywności katalazy oraz poziomu melatoniny w surowicy. Stwierdzono, że pogorszenie objawów chorobowych u badanych pacjentów było związane ze wzrostem stanu stresu oksydacyjnego i jednoczesnym spadkiem enzymów antyoksydacyjnych i poziomu melatoniny (27). Działanie antyoksydacyjne melatoniny zostało również potwierdzone w badaniach nad zaćmą u psów (28). W badaniach tych przez 60 dni stosowano melatoninę w tabletkach u psów zagrożonych zaćmą (5 mg/20–25 kg m.c./dzień) i kontrolowano co 15 dni stan soczewek oraz stopień działania antyoksydacyjnego syntetycznego analogu tego hormonu. Stwierdzono, że melatonina zmniejsza stopień peroksydacji lipidów, o czym świadczy obniżony poziom aldehydu dimalonowego (MDA) oraz podwyższa aktywność systemu antyoksydacyjnego, powodując wzrost aktywności SOD. Jednocześnie stan soczewek nie ulegał zmianie (28).

Przedstawione wyniki badań przeprowadzonych na różnych modelach doświadczalnych potwierdzają, że stosowanie syntetycznego analogu melatoniny powoduje zmniejszenie peroksydacji lipidów oraz zwiększa aktywność czynników obrony enzymatycznej organizmu. Przytoczone dane o antyoksydacyjnym działaniu melatoniny powinny być powodem do szerszego stosowania tego leku u psów i kotów. Częstotliwość toksycznych uszkodzeń wątroby (np. po lekach) u tych zwierząt jest stosunkowo duża. Stosując melatoninę w różnym rodzaju stanach anormalnego zachowania się małych zwierząt (18, 29), jednocześnie można oczekiwać występowanie korzystnego wpływu tego leku na komórki wątrobowe. Generalnie za wyborem melatoniny w lecznictwie psów i kotów przemawia praktyczny brak działań niepożądanych tego leku. U psów w pilotażowych badaniach nad działaniem antyoksydacyjnym melatoniny, wielokrotne podawanie przez 60 dni dawki 5 mg/24 h/psa nie powodowało żadnych działań niepożądanych (28). Obserwacje prowadzone na ludziach również potwierdzają fakt, że melatonina charakteryzuje się szerokim marginesem bezpieczeństwa (3). Sporadycznie obserwowano jedynie senność, bóle brzucha i występowanie koszmarów nocnych. Nawet po stosowaniu bardzo wysokich dawek – 6,6 g/24 h przez 35 dni u 11 osób (30) nie stwierdzono żadnych działań niepożądanych. Ponadto podawanie melatoniny przez 30 dni w dawce 10 mg/24 h/osobę lub 2 mg/24 h i 3 mg/24 h/osobę przez 6 miesięcy nie powodowało istotnych zmian w morfologii krwi, moczu,



stężeniach glukozy, bilirubiny, mocznika, kreatyniny, cholesterolu, poziomach triglicerydów, białka całkowitego, potasu, sodu, wapnia, fosforu, aktywności AST i ALT oraz stężeniach hormonów: trijodotyroniny, tyroksyny, TSH, FSH, LH, kortyzolu i prolaktyny (31, 32). Przedstawione dane z obserwacji przedklinicznych na zwierzętach doświadczalnych i klinicznych u ludzi potwierdzają, że stosowanie jednorazowe MT w dużych dawkach lub wielokrotne w dawkach nawet wyższych od przeciętnie stosowanych u człowieka może być całkowicie bezpieczne.

## Piśmiennictwo

- Williams I.: The use of antioxidants in liver disease. *Proc. 17th FECAVA Eurocongress* 2011, 306-308.
- Twedt D.C.: Antioxidants and liver disease. *Proc. 19th ACVIM* 2001, 13-16.
- Karasek M., Lewiński A., Reiter R.J.: Melatonina: znaczenie kliniczne i zastosowanie terapeutyczne. *Endokrynol. Pol.* 2001, **52**, 81-100.
- Reiter R.J., Melchiorri D., Sewerynek E., Poeggeler B., Barlow – Walden L., Chuang J.L., Ortiz G.G., Acuna-Castroviejo D.: A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. *J. Pineal Res.* 1995, **18**, 1-11.
- Center S.A.: SAMe in liver disease. *Proc. TNAVC* 2001, 218-219.
- Center S.A.: S-adenosylmethionine (SAMe): An antioxidant and anti-inflammatory nutraceutical. *Proc. 18th ACVIM* 2000, 550-552.
- Center S.A., Randolph J.F., Warner K.L., McCabe-McClelland J., Foureman P., Hoffmann W.E., Erb H.N. The effects of S-adenosylmethionine on clinical pathology and redox potential in the red blood cell, liver, and bile of clinically normal cats. *J. Vet. Intern. Med.* 2005, **19**, 303-314.
- Center S.A., Warner K.L., McCabe J., Foureman P., Hoffmann W.E., Erb H.N. Evaluation of the influence of S-adenosylmethionine on systemic and hepatic effects of prednisolone in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 2005, **66**, 330-341.
- Webb C.B., Twedt D.C., Fettman M.J., Mason G.: S-adenosylmethionine (SAMe) in feline acetaminophen model of oxidative injury. *J. Feline Med. Surg.* 2003, **5**, 69-75.
- Flora K., Hahn M., Rosen H.: Milk thistle (*Silybum marianum*) for therapy of liver disease. *Am. J. Gastroenterol.* 1998, **93**, 139-143.
- Vogel G., Tuchweber B., Trost W., Mengers U.: Protection of silibinin against Amanita phalloides intoxication in beagles. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1984, **72**, 355-362.
- Löscher W., Ungemach F., Kroker R.: *Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren*. Berlin: Parey-Verlag 2003.
- Dimitrov M.V., Mayer C., Gilliland D., Ruppenthal M., Chenowith W., Malone W.: Plasma tocopherol concentrations in response to supplemental vitamin E. *Am. J. Clin. Nutr.* 1991, **53**, 723-729.
- Packer L.: Vitamin E is nature's master antioxidant. *Sci. Amer. (Sci. Med.)* 1994, **3/4**, 54-63.
- Bulger E.M., Helton W.S.: Nutrient antioxidants in gastrointestinal diseases. *Gastroenterol. Clin. North Am.* 1998, **27**, 403-419.
- Fraga C.G., Oteiza P.I.: Iron toxicity and antioxidant nutrients. *Toxicology* 2002, **180**, 23-32.
- Brusco L.L., Marquez M., Cardinali D.P.: Melatonin treatment stabilizes chronobiologic and cognitive symptoms in Alzheimer's disease. *Neuroendocrinol. Lett.* 1998, **19**, 111-115.
- Aronson L.: Animal behavior case of the month. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 1999, **215**, 22-24.
- Zań R., Roliński Z., Kowalski C., Burmańczuk A., Polska B.: Melatonina, jej właściwości biologiczne i możliwe zastosowania kliniczne u ludzi oraz zwierząt. *Życie Wet.* 2011, **86**, 225-228.
- Tan D.X., Chen L.D., Poeggeler B., Manchester L.C., Reiter R.J.: Melatonin: a potent, endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocrine J.* 1993, **1**, 57-60.
- Antólin, I., Rodríguez, C., Sainz, R. M., Uriá, H., Mayo, J. C., Kotler, M., Rodríguez-Colunga, M. J., Tolivia, D., Menendez-Pelaez, A.: Neurohormone melatonin prevents cell damage. Effect of gene expression for antioxidant enzymes. *FASEB J.* 1996, **10**, 882-890.
- Sewerynek E., Abe M., Reiter R.J., Barlow-Walden L.R., Chen L., McCabe T.J., Roman L.J., Diaz-Lopez B.: Melatonin administration prevents lipopolysaccharide-induced oxidative damage in phenobarbital-treated animals. *J. Cell. Biochem.* 1995, **58**, 436-444.
- Sewerynek E., Melchiorri D., Reiter R.J., Ortiz G.G., Lewiński A.: Lipopolysaccharide-induced hepatotoxicity is inhibited by the antioxidant melatonin. *Eur. J. Pharmacol. Environ. Toxicol. Pharmacol. Sect.* 1995, **293**, 327-334.
- Sewerynek E., Reiter R.J., Melchiorri D., Ortiz G.G., Lewiński A.: Oxidative damage in the liver induced by ischemia-reperfusion: Protection by melatonin. *Hepato-Gastroenterology* 1996, **43**, 898-905.
- Othman A.I., El-Missiry M.A., Amer M.A., Arafa M.: Melatonin controls oxidative stress and modulates iron, ferritin, and transferrin levels in adriamycin treated rats. *Life Sci.* 2008, **83**, 563-568.
- Sirajudeen M., Gopi K., Tyagi J.S., Moudgal R.P., Mohan J., Singh R.: Protective effect of melatonin in reduction of oxidative damage and immunosuppression induced by aflatoxin B(1)-contaminated diets in young chicks. *Environ. Toxicol.* 2009, **26**, 153-160.
- Gumral N., Naziroglu M., Ongel K., Beydilli E.D., Ozguner F., Sutcu R., Caliskan S., Akkaya A.: Antioxidant enzymes and melatonin levels in patients with bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease during stable and exacerbation periods. *Cell Biochem. Funct.* 2009, **27**, 276-283.
- Madany J.: Badania nad zaćmą psów ze szczególnym uwzględnieniem stanu antyoksydacyjnego. *Rozprawy Naukowe Akademii Rolniczej w Lublinie*, 2004.
- Zań R., Roliński Z., Kowalski C., Zadrzyńska I., Andrychiewicz J., Duda M., Opielak G.: Observations on the anxiolytic and sedative action of melatonin some behavioral dysfunction in dogs and cats. *Med. Weter.* (w druku).
- Papavasiliou P.S., Cotzias G.C., Düby S.E., Steck A.J., Bell M., Lawrence W.H.: Melatonin and Parkinsonism. *J. Am. Med. Assoc.* 1972, **221**, 88-89.
- Seabra M.L., Bignotto M., Pinto L.R. Jr, Tufik S.: Randomized, double-blind clinical trial, controlled with placebo, of the toxicology of chronic melatonin treatment. *J. Pineal Res.* 2000, **29**, 193-200.
- Siegrist C., Benedetti C., Orlando A., Beltrán J.M., Tuscherr L., Noseda C.M., Brusco L.L., Cardinali D.P.: Lack of changes in serum prolactin, FSH, TSH, and estradiol after melatonin treatment in doses that improve sleep and reduce benzodiazepine consumption in sleep-disturbed, middle-aged, and elderly patients. *J. Pineal Res.* 2001, **30**, 34-42.

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

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