

Original Paper

Protective effect of melatonin and Amphotericin B in affected rats with *Aspergillosis*

***Hossein Nowrozi (Ph.D)**, Corresponding Author, Assistant Professor, Department of Laboratory Sciences, School of Allied Medical Sciences, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. nowrozi.h@iums.ac.ir ORCID ID: 0000-0001-6451-4244

Ali Kazemi (Ph.D), Assistant Professor, Department of Pharmacology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. ORCID ID: 0000-0002-7969-7503

Mahsa Shokri (M.Sc), Academic Instructor, Department of Microbiology, College of Medical Sciences, Varamin- Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran. ORCID ID: 0000-0001-6665-0004

Abstract

Background and Objective: Fungal diseases are increasing in immunocompromised patients. One of the important fungal diseases is *Aspergillosis*. Few studies have been conducted on the effects of melatonin on fungal diseases. This study was performed to determine the protective effect of melatonin and Amphotericin B in *Aspergillosis* in rat model.

Methods: This experimental study was done on 40 Wistar rat with weight ranging from 200 to 250 grams. Animals were allocated in five groups. The first group was positive control (immunocompromised condition with cyclophosphamide and inoculation of *Aspergillus* spore). The second group was negative control (without drug and inoculation of *Aspergillus* spore) and the third group was treated by melatonin (200 µg/kg). The fourth group was treated by Amphotericin B and fifth group was treated by melatonin plus Amphotericin B. IL.6 and TNFα were measured in the first and tenth days after contamination.

Results: The level of the IL.6 and TNFα in three interventional treated groups significantly reduced in compared to positive control group in first and tenth days ($P < 0.05$). The level of the IL.6 and TNFα in melatonin plus Amphotericin B group significantly reduced in comparison with Amphotericin B and melatonin treated groups in first and tenth days ($P < 0.05$).

Conclusion: Melatonin with Amphotericin B increases immune competent system in rats affected with *Aspergillosis*.

Keywords: Melatonin, Amphotericin B, *Aspergillosis*, IL.6, TNFα

Received 31 Jan 2018

Revised 8 Apr 2018

Accepted 20 Jun 2018

Cite this article as: Hossein Nowrozi, Ali Kazemi, Mahsa Shokri. [Protective effect of melatonin and Amphotericin B in affected rats with *Aspergillosis*]. J Gorgan Univ Med Sci. 2019 Spring; 21(1): 46-51. [Article in Persian]

اثر محافظتی ملاتونین و آمفوتریسین B در موش‌های صحرایی مبتلا به آسپرژیلوزیس

ORCID ID: 0000-0001-6451-4244

* دکتر حسین نوروزی، استادیار گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

ORCID ID: 0000-0002-7969-7503

دکتر علی کاظمی، استادیار، گروه فارماکولوژی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

ORCID ID: 0000-0001-6665-0004

مهسا شکری، مربی گروه میکروبیولوژی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: بیماری‌های قارچی در بیماران دارای نقص سیستم ایمنی رو به افزایش است. از مهم‌ترین بیماری‌های قارچی آسپرژیلوزیس است. در ارتباط با اثر ملاتونین در بیماری‌های قارچی مطالعات اندکی انجام شده است. این مطالعه به منظور تعیین اثر محافظتی ملاتونین و آمفوتریسین B در موش‌های صحرایی مبتلا به آسپرژیلوزیس انجام شد.

روش بررسی: این مطالعه تجربی روی ۴۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم انجام شد. حیوانات به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. گروه‌ها شامل گروه کنترل منفی (بدون دارو و عامل قارچی)، کنترل مثبت (ایجاد ضعف سیستم ایمنی با سیکلوفسفامید، سپس تلقیح با اسپور قارچی آسپرژیلوس)، گروه درمان شونده با ملاتونین (دوز ۲۰۰ µg/kg)، گروه درمان شونده با آمفوتریسین B و گروه دریافت کننده آمفوتریسین B توام با ملاتونین بودند. عامل اینترلوکین-۶ (Interleukin-6: IL-6) و TNFα (Tumor Necrosis Factor Alpha) در روزهای یک و ۱۰ بعد از آلودگی اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: مقادیر IL-6 و TNFα روز اول و دهم هر سه گروه تیمار در مقایسه با گروه کنترل مثبت، کاهش آماری معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$). مقادیر IL-6 و TNFα روز اول و دهم در گروه تیمار شده با آمفوتریسین B توام با ملاتونین در مقایسه با دو گروه تیمار شده دیگر، به میزان بیشتری کاهش نشان داد ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: مصرف ملاتونین همراه با آمفوتریسین B باعث افزایش و تقویت سیستم ایمنی در موش‌های مبتلا به آسپرژیلوس می‌گردد.

کلید واژه‌ها: ملاتونین، آمفوتریسین B، آسپرژیلوزیس، IL-6، TNFα

* نویسنده مسؤول: دکتر حسین نوروزی، پست الکترونیکی: nowrozi.h@iums.ac.ir

نشانی: تهران، بزرگراه همت، تقاطع بزرگراه شهید چمران، جنب بیمارستان میلاد، دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده پیراپزشکی، تلفن: ۰۲۱-۸۶۷۰۴۷۳۸، نمابر ۸۸۳۰۱۵۰۵

وصول مقاله: ۱۳۹۶/۱۱/۱۱، اصلاح نهایی: ۱۳۹۷/۱/۱۹، پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۳/۳۰

مقدمه

بروز بیماری‌های قارچی به‌خصوص در بیماران دارای نقص سیستم ایمنی رو به افزایش است. بعد از کاندیدا، آسپرژیلوس دومین عامل مسبب عفونت‌های قارچی بیمارستانی محسوب می‌گردد (۱). از میان بیش از ۶۰۰ گونه قارچ آسپرژیلوس، گونه‌های آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس فومیگاتوس و آسپرژیلوس نیجر در ارتباط با بیماری‌زایی در میزبان انسانی از اهمیت بیشتری برخوردارند. اشکال بیماری ناشی از آسپرژیلوزیس شامل آسپرژیلوزیس ریوی، جلدی، منتشره و درگیری اعصاب مرکزی هستند که فرم تظاهرات بالینی به شرایط فیزیولوژیک میزبان، گونه قارچ آسپرژیلوس و عضو درگیر بستگی دارد (۲). عفونت‌های ریوی ناشی از آسپرژیلوزیس عمدتاً توسط آسپرژیلوس فومیگاتوس و سینوزیت‌های قارچی توسط آسپرژیلوس فلاووس ایجاد می‌گردند. داروهای شایع در درمان آسپرژیلوزیس شامل پلی‌ان‌ها، آزول‌ها و اکی‌نوکاندین‌ها هستند. آمفوتریسین B از جمله

داروهای پلی‌ان است که با اختلال در بالانس یونی سلول قارچی، اثر قارچ‌کشی خود را اعمال می‌کند. داروهای آزولی نظیر فلوکونازول و وکونازول با مهار آنزیم ۴ آلفا دمتیلاز اثر ضدقارچی خود را القا می‌کنند (۳).

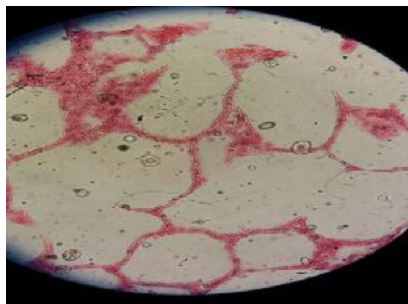
ملاتونین هورمون مترشحه از غده پینه‌آل است و در بدن از سروتونین ساخته می‌شود. ملاتونین همچنین در ارگان‌هایی نظیر لوله گوارش، تخمدان، جفت، پوست، سلول‌های گلیال، لنفوسیت‌ها و آستروسیت‌ها تولید می‌گردد (۴). ملاتونین دارای عملکردهای متعددی در بدن است که از مهم‌ترین آن می‌توان به تنظیم ریتم شبانه‌روزی بدن، بهبود کیفیت خواب، تقویت سیستم قلب و عروق، جلوگیری از روند پیری، خواص ضد آپوپتوز، جلوگیری از تشکیل رادیکال‌های آزاد و محافظت کننده در برابر بسیاری از بیماری‌ها نظیر سرطان اشاره کرد (۵). از دیگر اثرات ملاتونین خاصیت ضدالتهابی آن در بدن است. ملاتونین با اثر روی نیتریک اکسید (NO) و NOS باعث عدم تولید آن می‌شود. همچنین این هورمون

جدول ۱: مقایسه میزان $TNF\alpha$ و $IL.6$ در گروه‌های مورد مطالعه پس از تجویز ملاتونین و آمفوتریسین B

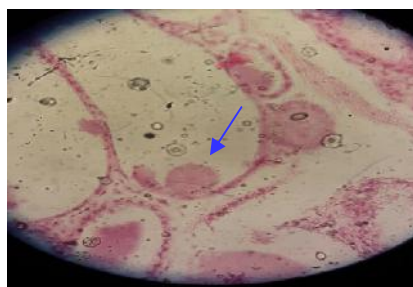
میانگین و انحراف معیار $TNF\alpha$ (pg.mol-1)		میانگین و انحراف معیار $IL.6$ (pg.mol-1)		گروه‌ها
روز اول	روز دهم	روز اول	روز دهم	
18 ± 0.7	14 ± 0.5	18 ± 7	10 ± 6	کنترل منفی
33 ± 1.5	28 ± 2	29 ± 14	23 ± 8	کنترل مثبت
$14 \pm 0.9^*$	$13 \pm 1^*$	$11 \pm 11^*$	$10 \pm 9^*$	ملاتونین
$12 \pm 1^*$	$14 \pm 1.3^*$	$12 \pm 9^*$	$14 \pm 8^*$	آمفوتریسین B
$11 \pm 1.5^*$	$9 \pm 0.7^*$	$9 \pm 9^*$	$8 \pm 8^*$	آمفوتریسین B توام با ملاتونین

* $P < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل مثبت؛ گروه کنترل منفی: عدم مداخله؛ گروه کنترل مثبت: دارای ضعف سیستم ایمنی و آلوده به سلول‌های قارچی استاندارد اسپرژیلوس؛ گروه ملاتونین: دارای ضعف سیستم ایمنی و آلوده به سلول‌های قارچی استاندارد اسپرژیلوس دریافت کننده ملاتونین ($200 \mu g/kg-1$)؛ گروه آمفوتریسین B: دارای ضعف سیستم ایمنی و آلوده به سلول‌های قارچی استاندارد اسپرژیلوس دریافت کننده آمفوتریسین B توام با ملاتونین: دارای ضعف سیستم ایمنی و آلوده به سلول‌های قارچی استاندارد اسپرژیلوس دریافت کننده آمفوتریسین B ($0.5 mg/kg-1$) توام با ملاتونین ($200 \mu g/kg-1$)

آمفوتریسین B توام با ملاتونین در مقایسه با دو گروه تیمار شده دیگر، به میزان بیشتری کاهش نشان داد ($P < 0.05$) (جدول یک).
در ارزیابی لام‌های پاتولوژیک وجود اسپور قارچ اسپرژیلوس و آغاز مرحله تشکیل توپ قارچی در گروه کنترل مثبت دیده شد (شکل یک). در سه گروه تیمار شده نشانی از آلودگی قارچی در ریه مشاهده نشد (شکل ۲).



شکل ۱: وجود اسپور قارچی در کیسه هوایی موش صحرایی گروه کنترل مثبت (دارای ضعف سیستم ایمنی و آلوده به سلول‌های قارچی استاندارد اسپرژیلوس)؛ بزرگ نمایی $400 \times$



شکل ۲: کیسه هوایی سالم در ریه موش صحرایی بزرگ نمایی $400 \times$

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه، ملاتونین با توجه به تقویت سیستم ایمنی از یکسو و اثر ضدقارچی خود اثر معنی‌داری در تخفیف شدت و افزایش بهبود بیماری قارچی داشت. در گروه تیمار شده با

دارای ضعف سیستم ایمنی و آلوده به سلول‌های قارچی استاندارد اسپرژیلوس، آمفوتریسین B را با دوز $0.5 mg/kg$ رقیق شده با سرم قندی به صورت داخل صفاقی و ملاتونین را با دوز $200 \mu g/kg$ روزانه به مدت سه روز به صورت داخل صفاقی دریافت نمود.

سپس از همه گروه‌ها خونگیری از ورید دمی انجام شد (۸). با جدا کردن سرم، فاکتورهای $IL.6$ و $TNF\alpha$ توسط کیت‌های ارزیابی کننده $IL.6$ (شرکت بیوسورس، کانادا) و $TNF\alpha$ (شرکت بیوسورس، کانادا) مخصوص موش صحرایی در روزهای اول و دهم بعد از آلودگی اندازه‌گیری گردید (۸). بدین ترتیب که ۱۰۰ میکرولیتر از سرم در هر گروه در چاهک‌های کیت ریخته شد. سپس ۵۰ میکرولیتر ماده ضد $TNF\alpha$ به چاهک‌ها اضافه شد. به موازات در چاهک کنترل نیز استاندارد $TNF\alpha$ به همراه ضد $TNF\alpha$ ریخته شد. پس از ۳ ساعت ماندگاری در دمای اتاق، ۳۰۰ میکرولیتر بافر شستشو به هر چاهک اضافه شد که سه بار تکرار گردید. در نهایت با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر متوقف کننده واکنش، در طول موج ۴۵۰ نانومتر جذب چاهک‌ها خوانده شد. دو موش صحرایی از هر گروه برای ارزیابی پاتولوژیک طبق اصول اخلاقی قربانی شدند و ریه آنها در فرمالین ۳۷ درجه سانتی گراد برای فیکس شدن قرار داده شد و لام بافتی تهیه گردید. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-16 و آزمون آنالیز واریانس و آزمون تعقیبی توکی تحلیل در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

مقادیر $TNF\alpha$ و $IL.6$ روز اول و دهم هر سه گروه تیمار در مقایسه با گروه کنترل مثبت، کاهش آماری معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$) (جدول یک).

مقادیر $TNF\alpha$ و $IL.6$ روز اول و دهم در گروه تیمار شده با

منفی در کشت خون عفونت‌های کاندیدی طی درمان با ملاتونین گزارش شد که حاکی از بهبود عفونت بود (۱۵) و از لحاظ موفقیت در عدم وجود عفونت قارچی با مقاله حاضر همخوانی داشت. در مطالعه Gómez-Moreno و همکاران مبنی بر تاثیر ملاتونین در بیماری عفونی حفره دهانی؛ ملاتونین دارای اثرات مفید و مثبتی در درمان بیماری‌های پریدنتال، کاندیدیازیس، عفونتهای هرپس ویروسی، گزروستومیا و التهابات دهانی بود (۱۶). تاثیر ملاتونین در عدم بروز بیماری‌های قارچی در حیوانات نیز گزارش شده است. به طوری که در مطالعه Terrón و همکاران تحت عنوان افزایش عملکرد فاگوسیتی کاندیدا/آلبیکنس تحت تاثیر ملاتونین در فاخته؛ کاربرد ملاتونین اگزوزن در فاخته تا یکساعت پس از تجویز منجر به افزایش عملکرد فاگوسیتی کاندیدا/آلبیکنس و کاهش اکسیداتیو استرس گردید (۱۷). با توجه به مجموعه مقالات در زمینه تاثیر ملاتونین در بهبود یا جلوگیری از بیماری‌های عفونی، اثر قابل توجه ملاتونین در بهبود یا جلوگیری از بیماری گزارش شده است که این تاثیر به خصوص در بیماری‌های قارچی که غالباً زمینه ضعف سیستم ایمنی وجود دارد؛ مشهودتر است.

با توجه به کاهش معنی‌دار سایتوکین‌ها، مهار آنها در بیماری‌های قارچی ممکن است یک هدف درمانی را نشان دهد. علاوه بر این، عدم حضور اسپور قارچ در مشاهدات میکروسکوپی همچنین اثرات اثبات شده ملاتونین در افزایش توان سیستم ایمنی، به کارگیری ملاتونین به تنهایی یا همراه با داروهای ضدقارچی توصیه می‌گردد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که مقادیر $TNF\alpha$ و $IL-6$ روز اول و دهم در گروه‌های دارای ضعف سیستم ایمنی و آلوده به سلول‌های قارچی استاندارد اسپرژیلوس تیمار شده با آمفوتریسین B و ملاتونین و نیز هر دو به صورت توأم، در مقایسه با گروه کنترل مثبت کاهش آماری معنی‌داری نشان داد و این کاهش در گروه مصرف توأم در مقایسه با دو گروه تیمار شده دیگر، به میزان بیشتری کاهش یافت. همچنین در مشاهدات میکروسکوپی حضور اسپور قارچ در گروه‌های تیمار مشاهده نشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی (شماره ۲۴۶۷۷-۳۱-۰۴-۹۳) مصوب معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی ایران بود و با حمایت آن معاونت محترم به انجام رسید. بدین وسیله از زحمات همه عزیزانی که در انجام این تحقیق، ما را یاری نمودند؛ تشکر می‌نمایم.

References

1. Tajik-Ijdan F, Kazemi A, Nowrozi H. Comparing the effects of alcoholic extract of ginseng with itraconazole against *Candida albicans* and *Candida krusei*. FEYZ. 2017; 21(3): 211-17.
2. Kazemi A, Nowrozi H, Badiee Moghadam M. [Drug

آمفوتریسین B توأم با ملاتونین کاهش معنی‌داری در $IL-6$ نسبت به گروه کنترل مثبت مشاهده شد. همچنین در این گروه میزان $TNF-\alpha$ نیز کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل مثبت و عدم افزایش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل منفی نشان داد.

سایتوکاین‌ها و E-selectin نقش مهمی در پاتوژن بیماری‌های قارچی و باکتریایی دارند (۷ و ۸). در مطالعه Yavuz و همکاران از ملاتونین در بیماری‌های قارچی کاندیدیازیس استفاده شد (۸). در مطالعه Yavuz و همکاران سایتوکاین‌ها در عفونت‌های ناشی از کاندیدا/آلبیکانس در حیوانات در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد (۸) که با مطالعه حاضر همخوانی داشت.

در این مطالعه سطح سایتوکاین‌ها در موش گروه سپتیک تحت درمان با ملاتونین در مقایسه با موش‌هایی که فقط آمفوتریسین B دریافت نمودند؛ به‌طور قابل ملاحظه پایین تشخیص داده شد. در تحقیقات مشابه اثرات ملاتونین بر روی حیوانات تضعیف شده از لحاظ ایمنی سلولی مورد بررسی قرار گرفته است (۵). اگرچه خواص immunomodulatory از ملاتونین به‌طور کلی به رسمیت شناخته شده، یافته‌های ناسازگار در خصوص اثر آن بر سایتوکاین‌های پیش‌التهابی مشاهده شده است. در یک فرآیند التهابی، سطح ملاتونین افزایش یافته و در نتیجه ملاتونین به عنوان یک عامل پیش‌التهابی توصیف شده است (۱۰). نتایج حاصل از مطالعه Jiménez Caliani و همکاران نشان داد ملاتونین روی تعداد سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی با تحریک سایتوکاین‌ها در شرایط آزمایشگاهی افزایش یافت و ملاتونین به عنوان یک عامل پیش‌التهابی شناخته شد (۱۱). در مطالعه Rahman و همکاران ملاتونین با کاهش تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی در موش فیروتنیک مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق اثر ضدالتهابی از ملاتونین تعریف شده است و درمان با هورمون ملاتونین در افزایش سایتوکاین proinflammatory به ثبت رسید (۱۲). در مطالعه Cengiz و همکاران اثر قابل ملاحظه ملاتونین در بهبود تظاهرات بالینی عفونت‌های قارچی ناشی از کاندیدا نظیر برفک دهان و واژن گزارش شد (۱۳) که با مطالعه حاضر همخوانی دارد. در مطالعه Vielma و همکاران اثر قابل ملاحظه ملاتونین در بهبود تظاهرات بالینی و کاهش مقاومت دارویی در بیماری‌های باکتریایی، ویروسی و انگلی نشان داده شد (۱۰). در بررسی ژنومی ژن‌های پیش‌التهابی، افزایش چسبندگی مولکول در لکوسیت‌ها و سایتوکاین‌ها در مدل‌های حیوانی مبتلا به قارچ کریپتوکوکوس نئوفورمنس رخ داده است (۱۴). در مطالعه Yang و همکاران ازدیاد نتایج کشت خون

susceptibility testing of clinical isolates of *Candida albicans* against Amphotericin B and Ketoconazole by microdilution and disk diffusion methods]. J Gorgan Univ Med Sci. 2017; 19(2): 59-64. [Article in Persian]

3. Wiederhold NP. Antifungal resistance: current trends and future strategies to combat. *Infect Drug Resist.* 2017 Aug; 10: 249-59. doi: 10.2147/IDR.S124918
4. Amstrup AK, Sikjaer T, Mosekilde L, Rejnmark L. The effect of melatonin treatment on postural stability, muscle strength, and quality of life and sleep in postmenopausal women: a randomized controlled trial. *Nutr J.* 2015 Sep; 14: 102. doi: 10.1186/s12937-015-0093-1
5. Aranda ML, González Fleitas MF, De Laurentiis A, Keller Sarmiento MI, Chianelli M, Sande PH, et al. Neuroprotective effect of melatonin in experimental optic neuritis in rats. *J Pineal Res.* 2016 Apr; 60(3): 360-72. doi: 10.1111/jpi.12318
6. Jenwitheesuk A, Nopparat C, Mukda S, Wongchitrat P, Govitrapong P. Melatonin regulates aging and neurodegeneration through energy metabolism, epigenetics, autophagy and circadian rhythm pathways. *Int J Mol Sci.* 2014 Sep; 15(9): 16848-84. doi: 10.3390/ijms150916848
7. Srinivasan V, Mohamed M, Kato H. Melatonin in bacterial and viral infections with focus on sepsis: a review. *Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov.* 2012 Jan; 6(1): 30-39.
8. Yavuz T, Kaya D, Behçet M, Ozturk E, Yavuz Ö. Effects of melatonin on *Candida* sepsis in an experimental rat model. *Advances in Therapy.* 2007; 24(1): 91-100.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; approved standard. 2nd ed. CLSI document M38-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 2008.
10. Vielma JR, Bonilla E, Chacín-Bonilla L, Mora M, Medina-Leendertz S, Bravo Y. Effects of melatonin on oxidative stress, and resistance to bacterial, parasitic, and viral infections: a review. *Acta Trop.* 2014 Sep; 137: 31-38. doi: 10.1016/j.actatropica.2014.04.021
11. Jiménez-Calani AJ, Jiménez-Jorge S, Molinero P, Guerrero JM, Fernández-Santos JM, Martín-Lacave I, et al. Dual effect of melatonin as proinflammatory and antioxidant in collagen-induced arthritis in rats. *J Pineal Res.* 2005 Mar; 38(2): 93-99.
12. Rahman SA, Castanon-Cervantes O, Scheer FA, Shea SA, Czeisler CA, Davidson AJ, et al. Endogenous circadian regulation of pro-inflammatory cytokines and chemokines in the presence of bacterial lipopolysaccharide in humans. *Brain Behav Immun.* 2015 Jul; 47: 4-13. doi: 10.1016/j.bbi.2014.11.003
13. Cengiz MI, Cengiz S, Wang HL. Melatonin and oral cavity. *Int J Dent.* 2012; 2012: 491872. doi: 10.1155/2012/491872
14. Elmahallawy EK, Luque JO, Aloweidi AS, Gutiérrez-Fernández J, Sampedro-Martínez A, Rodríguez-Granger J, et al. Potential relevance of melatonin against some infectious agents: a review and assessment of recent research. *Curr Med Chem.* 2015; 22(33): 3848-61.
15. Yang HP, Tsang PC, Tsang PW. Melatonin inhibits biofilm formation in *Candida parapsilosis*. *J Mycol Med.* 2014 Dec; 24(4): 360-61. doi: 10.1016/j.mycmed.2014.05.003
16. Gómez-Moreno G, Guardia J, Ferrera MJ, Cutando A, Reiter RJ. Melatonin in diseases of the oral cavity. *Oral Dis.* 2010 Apr; 16(3): 242-47. doi: 10.1111/j.1601-0825.2009.01610.x
17. Terrón MP, Cubero J, Barriga C, Ortega E, Rodríguez AB. Phagocytosis of *Candida albicans* and superoxide anion Levels in ring dove (*Streptopelia risoria*) heterophils: effect of melatonin. *J Neuroendocrinol.* 2003 Dec; 15(12): 1111-15.