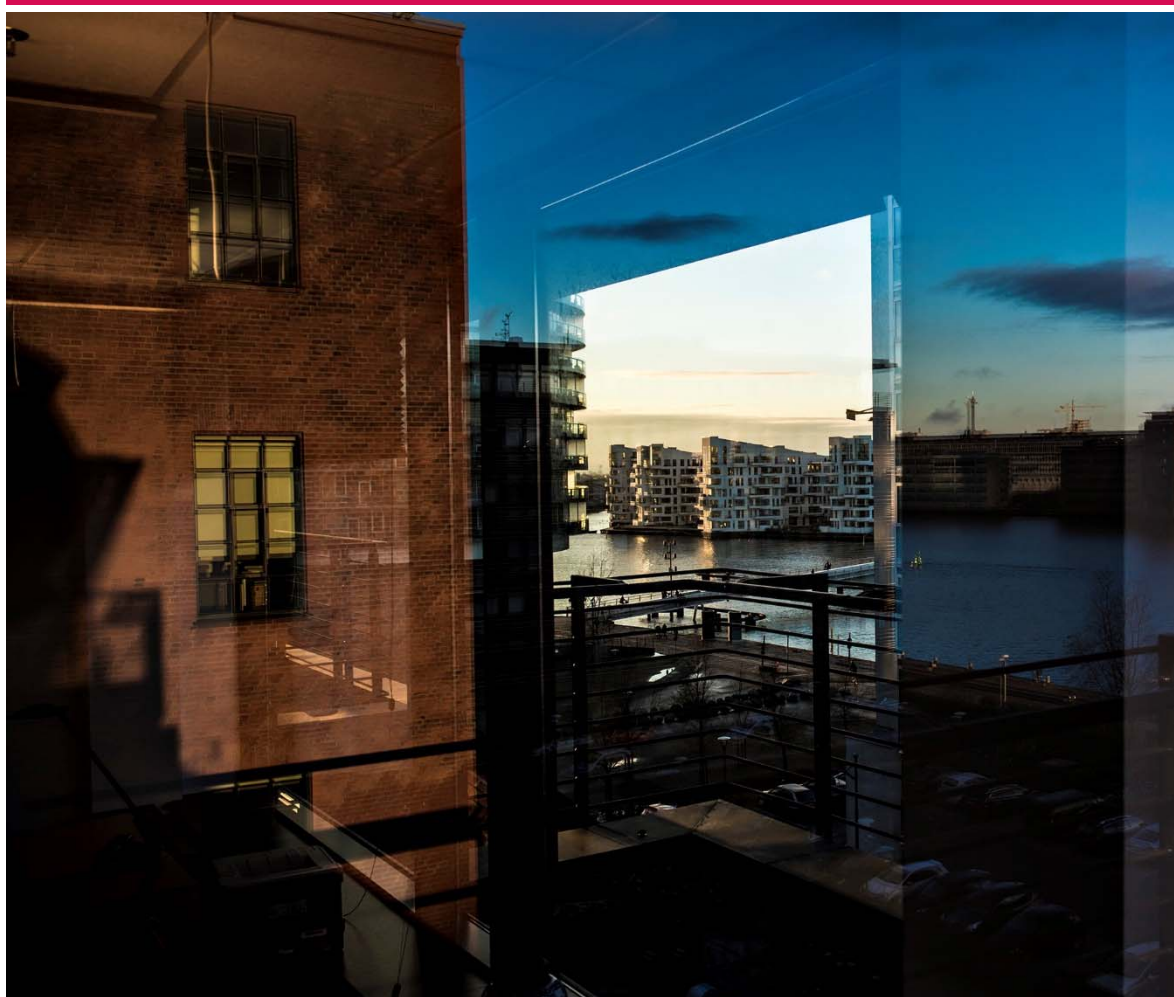




Melatonin

Mulig utilsigtet påvirkning af kønsmodning – et litteraturstudie



© Lægemiddelstyrelsen, 2016

Du kan frit referere teksten i publikationen, hvis du tydeligt gør opmærksom på, at teksten kommer fra Lægemiddelstyrelsen.

Det er ikke tilladt at genbruge billeder fra publikationen.

Lægemiddelstyrelsen
Axel Heides Gade 1
2300 København S
lmst.dk

Emneord

Melatonin, sæsonuafhængig forplantning, sæsonafhængig forplantning

Dansk

Version

1.0

Versionsdato

Oktober 2016

Udgivet af

Lægemiddelstyrelsen 03.10.2016

ISBN Elektronisk 978-87-92390-11-0

Indhold

1	Indledning	4
2	Metode	4
3	Melatonin	5
	3.1 Syntese og udskillelse	5
	3.2 Reproduktionsfysiologi	5
	3.3 Effekt på ovarier	5
	3.4 Puberteten	6
4	Arter med sæsonafhængig forplantning	6
	4.1 Får	6
	4.2 Svin	7
	4.3 Aber	7
	4.4 Resumé	7
5	Arter med sæsonuafhængig forplantning	7
	5.1 Rotter	8
	5.2 Studier der viste fremskyndet kønsmodning	8
	5.3 Studier der viste forsinket eller ingen påvirkning af kønsmodningen	9
	5.4 Resumé	10
6	Diskussion og konklusion	10
7	Referenceliste	11

1

Indledning

Antallet af børn og unge i aldersgruppen 0-17 år, der får udskrevet lægemidler med melatonin (magistrel melatonin og Circadin®) er stigende. Magistrelle lægemidler til mennesker er lægemidler, der tilberedes på et apotek efter recept fra en læge. Circadin® er godkendt til indikationen monoterapi ved korttidsbehandling af primær søvnløshed kendetegnet ved dårlig søvnkvalitet hos patienter i alderen 55 år eller derover.

Melatoninkoncentrationen falder omkring puberteten, og det er muligt, at der findes en hæmmende effekt af melatonin på Gonadotropin releasing hormone (GnRH) udskillelsen i mennesker; omvendt er det vist, at GnRH behandling ikke ændrer niveauet af melatonin i plasma (1,2).

Faldet i melatoninkoncentrationen omkring pubertetens begyndelse kan være et udtryk for en generel vækstspurt og et resultat af øget fordelingsvolumen, således at den lavere melatoninkoncentration ikke er fast forbundet med pubertetsudviklingen (2,3,4).

I ovariets follikelvæske findes hos mennesket koncentrationer af melatonin, der er højere end i blodet, og koncentrationen stiger hen mod ovulation (5). Ovenstående kan teoretisk påvirke ovulationen og pubertetens indtræden.

Der er endnu ikke offentliggjort prækliniske studier om anvendelse af melatonin til børn, hvori effekter på pubertet og reproduktionsfysiologi er beskrevet. Der er derfor gennemgået relevante dyrestudier med henblik på at vurdere, om melatonin påvirker kønsmodningen hos børn. Der er medtaget dyrestudier, der vurderes relevante, uanset om studierne er udført med specifikt sigte på udviklingen af human medicin.

2

Metode

Der er søgt på MEDLINE frem til 1. juli 2016, og der er anvendt søgeordene melatonin, fertilitet, pubertet og ovarier. Der er specielt set efter publikationer med dyreforsøg og oversigtsartikler om emnet (se ovenfor).

3 Melatonin

3.1 Syntese og udskillelse

Koglelegemet, det såkaldte corpus pineale, påvirkes af mørkesignaler fra øjets nethinde via det autonome nervesystem. Efter stimulering af koglelegemets α - og β -adrenerge receptorer øges aktiviteten af N-acetyl transferase (NAT) i koglelegemets celler, hvorved serotonin omformes til melatoninforstadiet N-acetylserotonin stimuleres. Den endelige omdannelse af N-acetylserotonin til melatonin sker ved hjælp af enzymet hydroxyindol-O-methyltransferase i koglelegemets celler (6). Det endelige trin i melatonin syntesen kan også foregå i cummulisceller i ovariet (5).

Sammenhængen mellem mørke og NAT produktion understøttes af den i rotter fundne stigning i NAT aktivitet om natten i forhold til om dagen (7).

Melatonin udskilles i blodet med en rytme, der påvirkes af den cykliske variation i lys og mørke, og blodets maksimale melatoninkoncentration findes ved normalt lys- og søvnmønster om natten. Varigheden af det høje natlige melatonin niveau er proportional med mørkeperiodens længde (8,9,10,11).

3.2 Reproduktionsfysiologi

Både menneske- og dyrestudier har vist, at koglelegemet spiller en vigtig rolle blandt andet i den endokrine kontrol af reproduktionsfysiologien (12,13,14,15).

Rottestudier har blandt andet vist, at melatonin fra koglelegemet hæmmer GnRH induceret Luteiniserende Hormon (LH) og Follikel Stimulerende Hormon (FSH) udskillelse fra den nyfødte rottes forreste hypofyselap (16,17). Den hæmmende effekt på hypothalamus-hypofyseaksen er aldersafhængig. I rotter aftager den hæmmende effekt efter ti levedage (18).

3.3 Effekt på ovarier

Melatonin har en beskyttende virkning på ovariet og testes over for oxidativt stress¹. I ovariets follikelvæske findes melatoninkoncentrationer, der er højere end i blodet, og koncentrationen stiger hen mod ovulation (5).

I hunrotter, der havde fået fjernet koglelegemet, var serumprogesteron niveauet lavere end hos ikke-opererede og opererede, som ikke havde fået fjernet koglelegemet (snydeopererede), og den manglende melatonin var associeret med øget follikeldegeneration og fravær af corpora lutea samt lavere tæthed af progesteronreceptorer i ovarierne. Dyr, som havde fået

¹ Den beskyttende effekt imod oxidativ stres er generel og skyldes stimulering af antioxidative enzymer og hæmning af oxidative enzymer og er derfor receptoruafhængig. Oxidativ stres kan medføre celledskade,

fjernet koglelegemet, men modtog erstatningsmelatonin i form af 10 mikrogram per nat, udviste ikke de nævnte patologiske forandringer som følge af koglelegeme fjernelse (19).

3.4 Puberteten

Hos mennesker falder niveauet af melatonin i plasma i løbet af de første 10 leveår. Omkring 10 års alderen starter hypothalamus-hypofyse-gonadeaksen, som har været inaktiv efter de første par leveår, igen med stigende frekvens og amplitude af GnRH, LH og FSH pulsation. Hermed starter puberteten (20). Man har overvejet, om faldet af melatonin i plasma under en ikke fastlagt grænseværdi fungerer som et signal til genoptagelse af GnRH pulsationen og dermed pubertetens indtræden (21).

Melatonins betydning for puberteten hos mennesker er ikke kendt med sikkerhed. Det er muligt, at der findes en hæmmende effekt af melatonin på GnRH udskillelsen i mennesker, men omvendt er det også vist, at GnRH behandling ikke ændrer niveauet af melatonin i plasma (1,2). Andre argumenterer for, at faldet i melatoninkoncentrationen omkring pubertetens begyndelse er et udtryk for en generel vækstspurt og et resultat af øget fordelingsvolumen, således at den lavere melatoninkoncentration ikke er fast forbundet med pubertetsudviklingen (2,3,4).

4

Arter med sæsonafhængig forplantning

I dyreracer med en sæsonbetinget brunstperiode afhænger parringslysten af den cykliske ændring i årets lys/mørke forhold. Man mener, at det er koglelegemet, som regulerer disse dyrs reproduktion (9,10,22), og dyrene har en variation i den natlige melatoninsekretion, der afspejler årstidens lys/mørke forhold, som er længevarende om vinteren og relativt kort om sommeren.

Brunstperioden varierer, idet den enten optræder i den mørke eller lyse årstid. Hamstere kommer for eksempel i brunst, når dagene er lange, mens får og rhesusaber kommer i brunst, når dagene er korte (23,6). Når rhesusaber holdes inden døre uden sæsonvariation kommer de tidligere i pubertet end under naturlige forhold (23).

I dyr, der går i vinterhi, for eksempel syrisk hamster, starter melatoninbehandling eller naturligt aftagende dagslængde en regressionsproces i gonaderne via hypothalamus-hypofyse-gonadeaksen (24).

4.1 Får

Melatonins effekt på den sæsonafhængige reproduktion er forholdsvis velbelyst hos får og visse dådyr, hvor melatonin anvendes til at styre brunstperioden med henblik på optimering af avlsarbejdet. Det er vist, at får har et snævert tidsmæssigt "behandlingsvindue", hvori melatonin implantater indsat i underhuden kan fremskynde brunst.

Forandringerne er reversible. Således vil brunstperioden indtræde til normal tid den følgende sæson, hvis melatoninbehandlingen ikke gentages, uanset om fåreracens brunstperiode er stærkt eller svagt sæsonafhængig.

Melatonin implantater indsat før eller efter behandlingsvinduet har ikke effekt på brunstudvikling. Behandlingsvinduet varierer mellem fåreracer og findes i perioden lige inden den naturlige ovulationssæson (25).

4.2 Svin

Landbrugssvin har normalt reduceret fertilitet om sommeren og efteråret, men ikke fuldstændig sæsonafhængig parring som deres forfader, vildsvinet (26). To studier om gylte (ungso) fandt ingen effekt af kontinuerlig melatonin på pubertetens indtræden eller ovulationscyklus (27,28).

I et tredje placebokontrolleret randomiseret studie med gylter fandt man fremskyndet pubertet hos dyr behandlet med melatonin oralt kl. 15:30 fra august til december (eksperiment 1) eller februar til maj (eksperiment 2) i forhold til placebo (29).

4.3 Aber

I hun rhesusaber, der var i puberteten, er der ikke fundet ændring i koncentrationen af oestradiol og Insulin-Like-Growth-Factor-1 (IGF-1) samt af perineal farvning og opsvulmethed, når de blev behandlet hver nat med melatonin i 30 dage til plasmakoncentrationer på niveau med forholdene inden pubertetens indtræden, i forhold til placebo. Ligeledes fandt man ingen ændringer af ovulation, serumestradiol, serum-LH eller serum-progesteron hos voksne hun rhesusaber, som var behandlet med melatonin om natten (30).

I et andet forsøg fandt man, at daglig melatonin injektioner om eftermiddagen, svarende til et kort dagsmønster i melatoninsekretionen, fremskyndede pubertetsudvikling i præpubertet rhesus aber (31).

4.4 Resumé

Hos får anvendes melatonin til at styre brunstperioden. Der er et meget snævert tidsmæssigt behandlingsvindue, og forandringerne er reversible.

Hos svin er der nogle forsøg, som viser, at melatonin kan fremskyde puberteten, mens der er andre der viser, at melatonin ingen effekt har.

Hos aber er der ligeledes udført forsøg som både viser, at melatonin kan fremskyde puberteten men også studier, der viser, at melatonin ingen effekt har.

5 Arter med sæsonafhængig forplantning

De arter, for eksempel mennesker, der ikke har sæsonafhængig forplantning, har i lighed med sæsonafhængige arter en melatoninudskillelse, der skifter i takt med lys-mørke cyklus, men

reproduktionen påvirkes ikke af den skiftende melatoninsekretion (32). Dog synes koglelegemet også involveret i menneskers neuroendocrine regulering af pubertet og reproduktionsfysiologi (33).

Selvom konception kan ske hele året hos mennesker, er konceptionsraten ujævnt fordelt på året. Specielt i de nordiske lande, er der om vinteren reduceret aktivitet i den anteriore hypofyse-ovarie akse (34) og øget niveau af melatonin i plasma (35). Konceptionsraten er højest om sommeren, hvor det natlige niveau af plasma LH er højest, og fødselsraten er maksimal om foråret (36).

5.1 Rotter

Der er udført flere studier af melatonins effekt på kønsmodning og forplantning hos rotter, der ligesom mennesker har en minimal sæsonafhængig forplantning, men som dog er lysfølsomme med hensyn til sekretion af blandt andet GnRH og udvikling af naturlig søvn (37).

Det er karakteristisk for rotters kønsmodning, der kan sammenlignes med menneskets pubertet, at der udvikles et specifikt pulserende mønster i GnRH sekretionen, som afspejles i en tilsvarende pulserende LH sekretion. Op til ovulation ses mønstre i LH sekretionen, der minder om mønsteret i primaters follikulære og luteale faser (38).

Nogle rotteforsøg har vist, at melatonin hæmmer hypofysens svar på LHRH (39,40,41). Det samme er påvist i et forsøg med kønsmodne kvinder (42). En direkte effekt af melatonin på æggestokke og testikler er påvist, da der er fundet melatoninreceptorer på disse både hos mennesker og nogle dyrearter (43,44).

5.2 Studier der viste fremskyndet kønsmodning

I et studie fandt man fremskynding af kønsmodningens indtræden hos rotter i melatoninbehandling. 100 mikrogram melatonin blev tilført rotteunger fra dag fem, enten tre timer før mørketid eller til middag klokken 12. I begge grupper blev pubertetsstarten signifikant fremskyndet i forhold til kontrolgruppen. Der blev desuden observeret signifikant fald af prolaktin i serum og FSH² i forhold til kontrolgruppen. Prolactinniveauet steg mere som respons på estradiolbehandling under melatoninbehandling end i kontrolgruppen (45).

Effekten af melatonin er undersøgt på Wistar albino hunrotter. 100 mikrogram melatonin blev givet subcutant klokken 15 i 10, 15 og 20 dage (fem i hver gruppe), startende når dyrene var fem eller ti dage gamle, svarende henholdsvis til før pubertet indtræden og ved begyndende pubertetsforandringer i sekretion. Melatonin fremskyndede vaginalåbningstidspunktet, dvs. kønsmodningen i de fem dage gamle rotter, men forsinkede den i de ti dage gamle dyr. Ovarievægten ved kønsmodningens indtræden var øget i fem dage gruppen og mindsket i ti dage gruppen (46).

I et forsøg, hvor 5 dage gamle rotter fik en enkelt subcutan melatonin injektion tre timer før mørketid, fandt man vaginalåbning og cirkulerende LH, FSH og estradiol signifikant tidligere end i ubehandlede rotter. Der var endvidere signifikante ændringer i serumprolactin og koglelegemets melatoninproduktion i melatoningruppen (47).

² Faldet i FSH kan ikke umiddelbart forklares

5.3 Studier der viste forsinket eller ingen påvirkning af kønsmodningen

I et studie blev der givet subcutane injektioner af 100 mikrogram melatonin til præpubertale rotter, der blev holdt i lys/mørkeforholdet i forskellige forhold. Melatonin blev givet gennem drikkevand fra dag 15 eller 22. Hos rotter, der startede behandling på dag 15 resulterede det i en signifikant forsinket kønsmodning og fald i ovarievægten. Når behandlingen startede på dag 22, havde den ingen effekt på kønsmodningstidspunktet eller ovarievægten. Ingen af grupperne havde ændret uterusvægt i forhold til kontrollerne. Melatoninbehandlingen påvirkede ikke antallet af corpora lutea (48).

I et andet placebokontrolleret studie blev ikke-kønsmodne hunrotters parringslyst (spontan åbning af vagina) og ovariemasse signifikant forsinket/nedsat efter 28 daglige injektioner af 1-20 mikrogram melatonin i underhuden eller inden for bughinden (tidspunkt for injektioner ikke angivet) (49).

Effekten af oral melatoninbehandling om natten eller hele dagen er undersøgt på Holtzman hunrotter. Dyrene modtog melatoninbehandlingen med drikkevandet, 10 mikrogram/ml. Placebogruppen fik rent vand. Rotter, der fik melatonin hver nat havde signifikant forsinket kønsmodning (vaginal åbning), mens der ikke var effekt af døgnbehandling. Fra vaginal åbning til 75 dage alderen var der ikke forskel på antallet af normale cyklus i nogen af grupperne i forhold til placebo. Fra dag 180-380 (normal alder for overgangsalder hos rotter) var der færre cyklusser med abnorm længde hos dyr, der fik tilført natlig melatonin (50).

Det tidsmæssige vindue med maximal følsomhed over for forstyrrelse af kønsmodning er undersøgt i Wistar hunrotter. Fra dag 15 fik hunrotterne injiceret 100 mikrogram melatonin i underhuden på forskellige tidspunkter af dagen. De rotter, som fik injiceret melatonin i løbet af de første 9-11 timer efter lysperiodens start fik 10 dage forsinket vaginal åbning og forstyrrelse i den første cyklus. Melatonininjektioner givet på andre tidspunkter havde ikke effekt på kønsmodningen. Hypofyse- og ovarieresponsen var ikke påvirket (51).

I et studie er undersøgt effekten af daglige melatonininjektioner i 20 dage gamle Wistar hanrotter og voksne (70-80 dage) og yngre end 20 dage (før-"pubertetsalderen"). Hanrotter, der ikke var kommet i pubertet, udviste ingen signifikant effekt. Pubertetsdyrene havde en dosisafhængig effekt i form af nedsat plasmakoncentration af testosteron, FSH og LH, nedsat tæthed af GnRH receptorer i hypofysen og nedsat vægt af testes og sædblærer. Hos voksne dyr var der kun en beskedne effekt. Kronisk melatonin tilførsel i alderen 20-50 dage ændrede ikke rytmen i den naturlige melatonin udskillelse, men øgede koncentrationerne af melatonin i plasma (52).

I et andet studie er påvist, at den hæmmende effekt på fertiliteten af daglige eftermiddagsinjektioner af 100 mikrogram melatonin var størst i Wistar hanrotternes 20-30 dage-alder. Startede behandlingen først på dag 30, var effekten beskedne og behandling i perioden dag 20-40 gav ikke større effekt end behandling dag 20-30. Effekten var reversibel fra dag 45, uanset om melatoninbehandlingen stoppede eller fortsatte (53).

I et tredje studie med 20-40 dage gamle hanrotter (svarende til fra pubertetsalderen) fandt man en dosisafhængig hæmning af den neuroendocrine akse ved daglige subcutane injektioner af 1, 5 og 100 mikrogram melatoninderivater med lille hæmning selv ved doser på 1 mikrogram (54).

På trods af den betydning, som administrationstidspunktet havde i talrige melatoninstudier, er der i et placebokontrolleret studie signifikant nedsat vægt af sædblærer og prostata hos albino Wistar hanrotter, der fra fem dage alderen blev behandlet med testosteron og fra 21 dage alderen fik indsat et "controlled release" melatoninimplantat, som medførte konstante melatoninkoncentrationer i blodet svarende til naturlige natlige koncentrationer. Testes vægt

var ikke påvirket af tilføjelsen af melatonin. Rytmen i rotternes egen melatoninsekretion ændredes ikke som følge af melatoninimplantatet, heller ikke, når rotterne blev udsat for konstant mørke (55).

5.4 Resumé

Det er i nogle studier hos rotter vist, at melatonin fremskynder puberteten og i andre, at melatonin forsinket eller ingen effekt har på kønsmodningen. Administrationstidspunktet og alder ved behandlingsstart har i flere af studierne betydning for, om der er effekt af behandlingen. Der er dog også påvist effekt af kontinuerlig behandling. Der er ikke fundet en nedre grænse for effektiv dosis i de studier, der viste fremskynding eller forsinkelse af kønsmodning.

6 Diskussion og konklusion

Det vurderes, at rotter er den mest anvendelige dyremodel til undersøgelse af de fysiologiske ændringer i kønsmodningen som følge af melatoninbehandlingen af børn og unge. Rotter har ligesom mennesket minimal sæsonafhængig kønsmodning, og de er velbeskrevne dyremodeller til lægemiddelstudier i den prækliniske fase,

Det skal dog understreges, at de gennemgåede studier ikke er udført med henblik på afklaring af sikkerheden i forbindelse med klinisk melatoninbehandling af børn. Doserne kan således ikke sammenlignes med de doser, der normalt anvendes til pædiatrisk behandling.

Talrige dyreforsøg er inkonsistente med hensyn til melatonins effekt på kønsmodningen. Nogle studier har vist fremskyndet kønsmodning, andre ingen eller forsinket kønsmodning.

De uoverensstemmende resultater af melatonintilførsel kan skyldes forskellige administrationstidspunkter i forhold til det tidsmæssige behandlingsvindue, behandlingsstart i varierende tidsmæssig relation til pubertetens indtræden, forskelle i lys/mørke forhold under studierne, forskelle i fertilitetens sæsonafhængighed hos forsøgsdyrene eller varierende påvirkning af det modsatte køn.

I de studier, hvor der var en påvirkning af puberteten, fandt man ingen dosis, hvorunder påvirkningen ikke forekom. I langtidsstudier var påvirkningerne reversible efter seponering af melatonin.

Ud fra de gennemgåede dyrestudier er det ikke muligt at afklare, om der er en risiko for påvirkning af puberteten hos børn. Det naturlige fald i melatoninkoncentration omkring pubertetsstart kan være et udtryk for en generel vækstspurt og øget fordelingsvolumen og er ikke nødvendigvis fast forbundet med pubertetsudviklingen.

Effekten af pædiatrisk behandling med melatonin er endnu mangelfuldt undersøgt.

Det Europæiske Lægemiddelagentur, EMA, har godkendt en "Paediatric Investigation Plan" for Circadin®. Planen indeholder studier, der skal undersøge lægemidlets sikkerhed og virkning med henblik på at få godkendt et lægemiddel til behandling af søvnløshed hos børn.

7

Referenceliste

1. Berga SL, Jones KL et al 1989. Nocturnal melatonin levels are unaltered by ovarian suppression in girls with central precocious puberty. *Fertil Steril*, 52, pp. 936–941. (Citeret i Aleandri V, Spina V et Morini A 1996)
2. Waldhauser F, Boepple PA et al 1991. Serum melatonin in central precocious puberty is lower than in age-matched prepubertal children. *J Clin Endocrinol Metab*, 73, pp. 793–796.
3. Brzezinsky A 1997. Melatonin in humans. *NEJM*, pp 186-195 (Citeret i Weaver DR 1997)
4. Wilson ME, Lackey S et al 1993. The amplitude of nocturnal melatonin concentrations is not decreased by oestradiol and does not alter reproductive function in adolescent or adult female rhesus monkeys. *J Endocrinol*, 137, pp. 299–309.
5. Reiter RJ and Rosales-Corral 2013. Peripheral Reproductive Organ Health and Melatonin: Ready for Prime Time. *Int J Mol Sci*, pp 7231-7272
6. Aleandri V, Spina V and Morini A 1996. The pineal gland and reproduction. *Human reproduction update*, pp 225-235
7. Sugden D, Vanecek J et al 1985. Activation of protein kinase C potentiates isoprenaline-induced cyclic AMP accumulation in rat pinealocytes. *Nature*, 314, pp 359–361. (Citeret i Aleandri V, Spina V et Morini A 1996)
8. Goldman BD 1991. Parameters of the circadian rhythm of pineal melatonin secretion affecting reproductive responses in Siberian hamsters. *Steroids*, 56, pp 218–225. (Citeret i Aleandri V, Spina V et Morini A 1996)
9. Reiter RJ 1991. Neuroendocrine effects of light. *Int J Biometereol*, 35, pp 169–175. (Citeret i Aleandri V, Spina V et Morini A 1996)
10. Reiter RJ 1993. The melatonin rhythm: both a clock and a calendar. *Experientia*, 49, pp 654–664. (Citeret i Aleandri V, Spina V et Morini A 1996)
11. Pevet P 1993. Present and future of melatonin in human and animal reproduction functions. *Contracept Fertil Sex*, 21, pp 727–732. (Citeret i Aleandri V, Spina V et Morini A 1996)
12. Kinson GA and Peat F 1971. The influences of illumination, melatonin, and pinealectomy on testicular functions in the rat. *Life Sci*, 10, pp 259–269. (Citeret i Aleandri V, Spina V et Morini A 1996)
13. Hoffman K 1973. The influence of photoperiod and melatonin on testis size and body weight in the Djungarian hamster. *J. Comp. Physiol*, 85, pp 267–282. (Citeret i Aleandri V, Spina V et Morini A 1996)
14. Brzezinski A and Wurtman, RJ 1988. The pineal gland: its possible roles in human reproduction. *Obstet Gynecol Surv*, pp 197–207
15. Matthews CD, Guerin MV and Deed JR 1993. Melatonin and photoperiodic time measurement: seasonal breeding in the sheep. *J Pineal Res*, 14, pp 105–116. (Citeret i Aleandri V, Spina V et Morini A 1996)
16. Martin JE and Klein DC 1976. Melatonin inhibition of the neonatal pituitary response to luteinizing hormone-releasing factor. *Science*, 191, pp 301–302 (citeret i Vanecek J 1999)

17. Martin JE and Sattler C 1982. Selectivity of melatonin pituitary inhibition for luteinizing hormone-releasing hormone. *Neuroendocrinology*, 34, pp 112-116
18. Martin JE and Sattler C 1979. Developmental loss of the acute inhibitory effect of melatonin on the in vitro pituitary luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone responses to luteinizing hormone-releasing hormone. *Endocrinology*, 105, pp 107-112
19. Maganhin CC, Fuchs LF et al 2013. Effects of melatonin on ovarian follicles. *Eur J Obstetr Gynecol Reprod Biol*, 166, 2, pp 178-184
20. Sizonenko PC 1989. Physiology of puberty. *J Endocrinol Invest*, 12, pp. 59–63.
21. Silman RE 1991. Melatonin and the human gonadotrophin-releasing hormone pulse generator. *J Endocrinol*, 128, pp. 7–11. (Citeret i Aleandri V, Spina V et Morini A 1996)
22. Weaver DR, Stehle JH et al 1993. Melatonin receptors in human hypothalamus and pituitary: implications for circadian and reproductive responses to melatonin. *J Clin Endocrinol Metab*, 76, pp 295–301(Citeret i Aleandri V, Spina V et Morini A 1996)
23. Wilson ME and Gordon TP 1989. Short-day melatonin pattern advances puberty in seasonally breeding rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *J Reprod Fert*, 86, pp 435-444
24. Guardiola-Lemaître B 1997. Toxicology of Melatonin. *Journal of Biological Rhythms*, 12, pp 697-706
25. Staples, McPhee et al 1992. The influence of exogenous melatonin on the seasonal patterns of ovulation and oestrus in sheep. *Animal reproduction science*, pp. 185-223
26. Love RJ, Evans G and Klupiec C 1993. Seasonal effects on fertility in gilts and sows. *J Reprod Fert Suppl*, 48, pp 191-206 [abstract]
27. Kennaway DJ, Hughes PE and van Wettere WH 2015. Melatonin implants do not alter estrogen feedback or advance puberty in gilts. *Anim Reprod*, 156, pp. 13-22 [abstract]
28. Diekman MA, Arthington JA et al 1997. Failure of melatonin implants to alter onset of puberty in gilts. *Anim Reprod Sci*, 46, 3-4, pp 283-288 [abstract]
29. Diekman MA, Clapper JA et al 1991. Reduction in age of puberty in gilts consuming melatonin during decreasing or increasing daylength. *J Anim Sci*, 69, 6, pp 2524- 2531
30. Wilson ME, Lackey S et al 1992. The amplitude of nocturnal melatonin concentrations is not decreased by oestradiol and does not alter reproductive function in adolescent or adult female rhesus monkeys. *J Endocrinol*, 137, pp. 299–309.
31. Wilson ME and Gordon TP 1989. Short-day melatonin pattern advances puberty in seasonally breeding rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *J Reprod Fert*, 86, pp 435-444
32. Ebling FJ and Foster DL 1989. Pineal melatonin rhythms and the timing of puberty in mammals. *Experientia*, pp 946-954
33. Balik A, Kretschmannova K et al 2004. Melatonin action in neonatal gonadotrophs. *Physiol Res*, 53 (suppl 1), pp S153-S166
34. Kauppila A, Pakarinen A et al 1987. The effect of season on the circulating concentrations of anterior pituitary, ovarian and adrenal cortex hormones and hormone binding proteins in the subarctic area: evidence of increased activity of the pituitary-ovarian axis in spring. *Gynecol Endocrinol*, 1, pp 137–150. (Citeret i Aleandri V, Spina V et Morini A 1996)

35. Kauppila A, Kivela A et al 1987. Inverse seasonal relationship between melatonin and ovarian activity in humans in a region with a strong seasonal contrast in luminosity. *J Clin Endocrinol Metab*, 65, pp 823–828. (Citeret i Aleandri V, Spina V et Morini A 1996)
36. Timonen S, Lokki O et al 1965. Seasonal changes in obstetrical phenomena. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 44, pp 507–533.
37. Rivest RW, Aubert ML and Sizonenko PC 1986. Puberty in the rat: Modulation by melatonin and light. *J Neural Transm Suppl.*, pp 81-108
38. Rivest RW 1987. The female rat as a model describing patterns of pulsatile LH secretion during puberty and their control by melatonin. *Gynecol Endocrinol*, 1, pp 279-93 [abstract]
39. Martin JE, McKellar S and Klein DC 1980. Melatonin inhibition of the in vivo pituitary response to luteinizing hormone releasing hormone in the neonatal rat. *Neuroendocrinology*, 31, pp. 13–17. (Citeret i Aleandri V, Spina V et Morini A 1996)
40. Vanecek J and Klein DC 1992. Melatonin inhibits gonadotropin-releasing hormone-induced elevation of intracellular Ca²⁺ in neonatal rat pituitary cells. *Endocrinology*, 130, pp. 701–707. (Citeret i Aleandri V, Spina V et Morini A 1996)
41. Hattori A, Herbert DC et al 1995. Melatonin inhibits luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH) induction of LH release from fetal rat pituitary cells. *Neurosci Lett.*, 184, pp. 109–112. (Citeret i Aleandri V, Spina V et Morini A 1996)
42. Voordouw BC, Euser R et al 1992. Melatonin and melatonin-progestin combinations alter pituitary-ovarian function in women and can inhibit ovulation. *Endocrin Metab*, pp 108-117 [abstract]
43. Cohen M, Rosella D and Chabner B 1978. Evidence for a cytoplasmic melatonin receptor. *Nature*, 274, pp. 894–896. (Citeret i Aleandri V, Spina V et Morini A 1996)
44. Ayre EA and Pang SF 1994. 2-[125I]iodomelatonin binding sites in the testis and ovary: putative melatonin receptors in the gonads. *Biol Signals*, 3, pp. 71–84. (Citeret i Aleandri V, Spina V et Morini A 1996)
45. Villanua MA, Agrasal C and Esquifino AI 1989. Neonatal melatonin administration advances rat vaginal opening and disrupts estrous cyclicity and estrogen-dependent regulatory mechanisms of luteinizing hormone and prolactin. *J Pineal Res*, 7, 2, pp 165-174 [abstract]
46. Batmanabane M and Ramesh KG 1994. Effect of exogenous melatonin on the onset of puberty in female albino rats. *The anatomical record* 245, pp 519-524
47. Esquifino AI, Villanua MA and Agrasal C 1987. Effect of neonatal melatonin administration on sexual development in the rat. *J Steroid Biochem*, 27, pp 1089-1093 [abstract]
48. Badawi H and Wilkinson M 1988 Lack of effect of melatonin on sexual maturation in female rats. *J Reprod Fert*, 83, pp 273-278
49. Wurtman RJ, Axelrod J and Chu EW 1963. Melatonin, a pineal substance: Effect on the rat ovary. *Science, New Series*, pp 277-278
50. Mehredit S, Jackson K et al 2000. Long-term supplementation with melatonin delays reproductive senescence in rats, without an effect on number of primordial follicles. *Experimental Gerontology*, pp 343-352
51. Rivest RW, Lang U et al 1985. Daily administration of melatonin delays rat vaginal opening and disrupts the first estrous cycles: Evidence that these effects are synchronized by the onset of light. *Endocrinology*, pp 779-787

52. Lang U, Aubert ML et al 1983. Influence of exogenous melatonin on melatonin secretion and the neuroendocrine reproductive axis of intact male rats during sexual maturation. *Endocrinology*, 112, pp 1578-1584
53. Lang U, Aubert ML et al 1984. Daily afternoon administration of melatonin does not irreversibly inhibit sexual maturation in the male rat. *Endocrinology*, pp 2303-2319
54. Lang U, Aubert ML et al 1985. Inhibitory action of exogenous melatonin, 5-methoxytryptamine and 6-hydroxymelatonin on sexual maturation of male rats: Activity of 5-methoxytryptamine might be due to its conversion to melatonin. *Biology of reproduction* 33, pp 618-628
55. Kennaway DJ and Rowe SA 1997. Controlled-release melatonin implants delay puberty in rats without altering melatonin rhythmicity. *J Pineal Res*, 22, pp 107-116