



Universidad
Zaragoza



Facultad de Medicina

CURSO 2020 - 2021

TRABAJO DE FIN DE GRADO:

Melatonina y COVID-19

Melatonin and COVID-19

Esther María Martín Capón

TUTOR: JOSÉ JOAQUÍN GARCÍA GARCÍA

**DEPARTAMENTO: FARMACOLOGÍA, FISIOLOGÍA Y MEDICINA
LEGAL Y FORENSE**

ÍNDICE

1. Resumen / Abstract	- 3 -
2. Palabras clave	- 4 -
3. Introducción	- 5 -
4. Material y métodos	- 7 -
5. Resultados y discusión	- 8 -
5.1 La melatonina como antiviral	- 9 -
5.2 Aplicación de la melatonina en la sepsis	- 11 -
5.3 Prevención del estrés oxidativo	- 17 -
5.4 Melatonina, COVID-19 y comorbilidades	- 22 -
5.5 Ensayos clínicos con melatonina para tratar el COVID-19	- 23 -
6. Conclusiones	- 26 -
7. Bibliografía	- 27 -

1. RESUMEN

La COVID-19 es una patología infecciosa grave, de reciente aparición, causada por un virus ARN, el SARS-CoV-2, perteneciente al grupo de los coronavirus en el que también se incluyen otros como el SARS-CoV, el MERS-CoV y SARS-CoV-2. Todos ellos tienen la característica común de producir un síndrome de distress respiratorio agudo, clínica principal del COVID-19. Esto se debe a que el virus desencadena una cascada de citocinas, que conlleva a una excesiva inflamación sistémica, oxidación mitocondrial y sobreexpresión del sistema inmunitario contra la infección.

La melatonina es una molécula natural del organismo, con unas potentes propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y moduladoras de la respuesta inmune que le confieren la capacidad de actuar frente a la respuesta inmunitaria que se desencadena frente al virus, y de preservar la mitocondria del daño oxidativo que ocasiona la infección, reduciendo así los radicales libres y las moléculas dañinas que provocan la apoptosis celular.

Por ello, nuestro objetivo principal será valorar la utilidad de la melatonina como una estrategia terapéutica útil frente a la infección por el SARS-CoV-2, para evitar una respuesta inmunológica desproporcionada y descontrolada que conlleva al estado inflamatorio sistémico y al fallo multiorgánico en la COVID-19.

1. ABSTRACT

COVID-19 is a serious infectious disease of recent appearance caused by an RNA virus, SARS-CoV-2, which belongs to the group of coronaviruses that includes others such as SARS-CoV, MERS-CoV and SARS-CoV-2. They all have the common characteristic of producing an acute respiratory distress syndrome, the main clinical feature of COVID-19. This is due to the virus triggers a whole cascade of cytokines, leading to excessive systemic inflammation, mitochondrial oxidation and overexpression of the immune system.

Melatonin is a natural molecule in the body, with powerful anti-inflammatory, antioxidant and immune response modulating properties. This confers melatonin the ability to participate in the immune response against the virus infection, to preserve the mitochondria from oxidative damage and to reduce free radicals and harmful molecules that cause cell apoptosis.

Therefore, our main objective will be to assess the usefulness of melatonin as a therapeutic strategy against SARS-CoV-2 infection, avoiding a disproportionate and uncontrolled immune response that leads to the systemic inflammatory state and multiorgan failure in COVID -19.

2. PALABRAS CLAVE

Melatonin, COVID-19, SARS-CoV-2, coronavirus, inflammation, celular oxidation.

3. INTRODUCCIÓN

La enfermedad por coronavirus-2019 (COVID-19) está causada por el SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*). La COVID-19 se identificó por primera vez a finales de diciembre de 2019 en Wuhan, en la provincia de Hubei, en China. Se detectó en un grupo de pacientes que presentaba una neumonía atípica de etiología desconocida y epidemiológicamente asociada a mariscos y otros alimentos del mercado marino de Wuhan. En marzo del 2020, la Organización Mundial de la Salud, declaró la COVID-19 como pandemia mundial para enfatizar la gravedad de la situación y promover acciones para la detección de la infección y limitar su transmisión. A día de hoy, el SARS-CoV-2 ha infectado más de 150 millones de personas y provocado la muerte de cerca de 3 millones. Alrededor del 80% de los infectados padecen síntomas leves y presentan recuperación del proceso infeccioso tras una o dos semanas del inicio de los síntomas, los cuales se limitan en su mayoría a las vías respiratorias altas. El 20% restante, desarrolla un cuadro de neumonía severa precisando hospitalización y en un pequeño porcentaje de estos casos, ventilación mecánica (1).

No se ha encontrado un tratamiento eficaz contra esta enfermedad, lo que ha propiciado la búsqueda de otras terapias alternativas a las actuales: hidroxiclороquina, ritonavir, remdesivir, tocilizumab, corticoides... que sean eficaces y baratas para frenar la progresión del cuadro. En este sentido, se ha propuesto como opción terapéutica la melatonina (2), una molécula indólica derivada del triptófano, de origen endógeno, que modula múltiples procesos fisiológicos entre los que destacan: la regulación de ritmos biológicos, la actividad inmunorreguladora y su potente acción antioxidante y antiinflamatoria (3).

La melatonina se sintetiza en la glándula pineal principalmente durante el periodo de oscuridad del ciclo circadiano. Es un órgano endocrino conectado a través de una vía polisináptica compleja con la retina, que se encarga de captar la señal de luz, regulando así la producción nocturna de melatonina. De esta forma, la oscuridad se asocia con altos niveles de melatonina, mientras que la luz, inhibe su producción (4). La melatonina también puede ser de origen pineal o extrapineal. La pineal regula las concentraciones plasmáticas del ciclo circadiano, mientras que la extrapineal es producida por los

diferentes órganos y tejidos del organismo y consumida localmente en función de sus necesidades.

Una vez producida, la melatonina pasa a la circulación cerebral y sistémica. Por un lado, atraviesa la barrera hemato-encefálica incorporándose a la circulación del líquido cefalorraquídeo (LCR). Por otro, circula en el plasma unida mayoritariamente a la albúmina, 70%, y libre. Ésta puede ser detectada también en muestras de saliva, que reflejan bien su concentración plasmática (5).

Existen varios metabolitos activos de la melatonina, producto del metabolismo hepático, cerebral y cutáneo, como son la 6-sulfatoximelatonina, la N-acetil-N-formil-5-metoxi-quinurenamina (AFMK) y N-acetil-5-metoxi-quinurenamina (AMK). De especial importancia es la 3-OH-melatonina cíclica, un marcador del estado redox del paciente y detectable en orina (4,5).

La identificación de los niveles de la melatonina en LCR, plasma y orina tiene especial interés por la asociación de niveles bajos de esta molécula con la edad avanzada (6,7), la obesidad (8,9), la diabetes (9,10), la hipertensión (11,12) y la patología cardiovascular (13), los cuales han sido identificados como factores de riesgo relacionados con mayor gravedad de la enfermedad por coronavirus (14,15).

De igual forma, diferentes estudios han demostrado la presencia del virus SARS-CoV-2 en el LCR y en el tejido neural de pacientes infectados, lo cual nos abre una posible estrategia terapéutica con melatonina, dirigida a reducir los efectos inflamatorios y oxidativos a nivel central (16). No obstante, se necesitan criterios clínicos y biomarcadores más precisos que puedan ayudar a diferenciar a las personas con mayor probabilidad de progreso a una enfermedad grave por SARS-CoV-2 (17).

El objetivo de este trabajo es determinar la relación que existe entre la infección por SARS-CoV-2 y la melatonina, y establecer si ésta pudiera ser un tratamiento eficaz en la infección y la disminución de la severidad del cuadro clínico.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Bases de datos

Para la recopilación bibliográfica se han utilizado como fuentes de búsqueda Pubmed, Google Académico, algunas revistas de remarcado impacto como Journal of Pineal Research, y páginas oficiales actualizadas en COVID-19, como www.who.it (OMS).

Criterios de inclusión

Se incluyen en la revisión sistemática los artículos de tipo metaanálisis, ensayo clínico controlado, estudio aleatorio controlado, revisiones y revisiones sistemáticas con disponibilidad en los idiomas inglés o español, y con acceso a texto completo.

Los descriptores que se utilizaron en la búsqueda fueron: Melatonin, COVID-19, SARS-CoV-2, sepsis, oxidative stress, antioxidant, antiinflammatory.

Criterios de exclusión

Se excluyen los artículos que no puedan aportar información relevante a la revisión, artículos en idiomas diferentes del inglés o español, que no tengan disponibilidad de acceso a texto completo o que no se aprecie calidad metodológica (Figura 1).

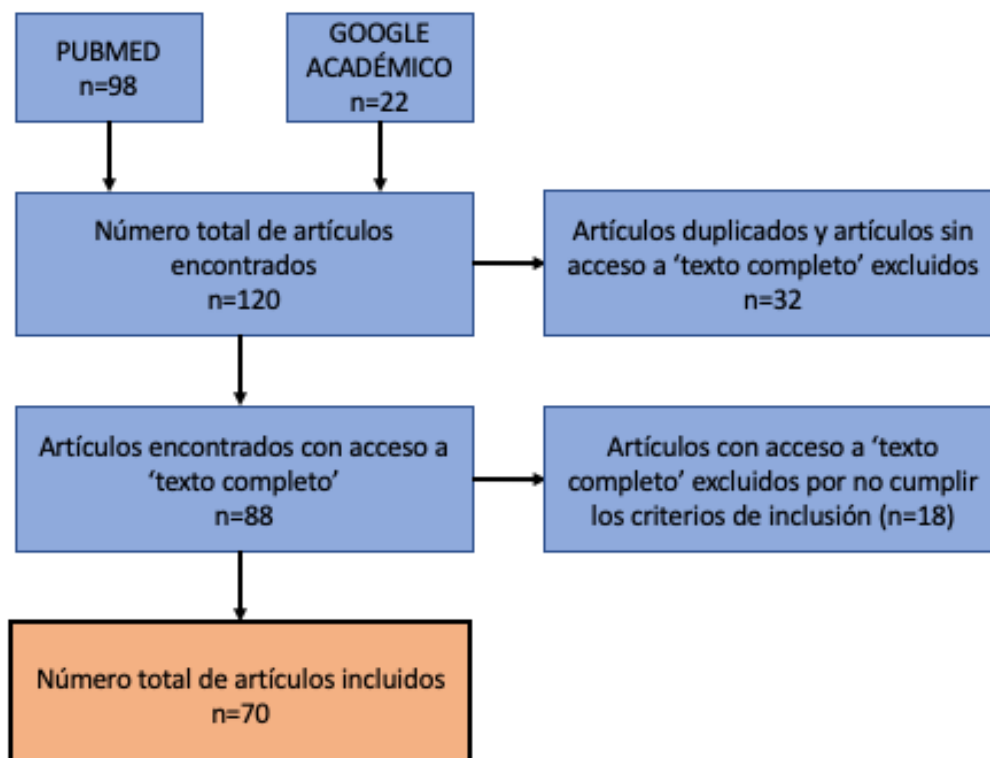


Figura 1: Diagrama del proceso de selección de artículos en la revisión sistemática.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La melatonina desempeña un papel fundamental en la regulación de los ritmos biológicos, el metabolismo celular y la apoptosis (18). A estas funciones, se suma su capacidad inmunomoduladora, antiinflamatoria y antioxidante, que son el fundamento de su potencial utilización terapéutica. Tiene función citoprotectora y modula la conexión núcleo-mitocondria; participa en diversos procesos destinados a depurar sustancias tóxicas e inflamatorias resultado del metabolismo celular, el daño tisular y la apoptosis; y mantiene la estabilidad y la estructura de la cadena respiratoria y la membrana mitocondrial permitiendo su correcto funcionamiento (Figura 2).

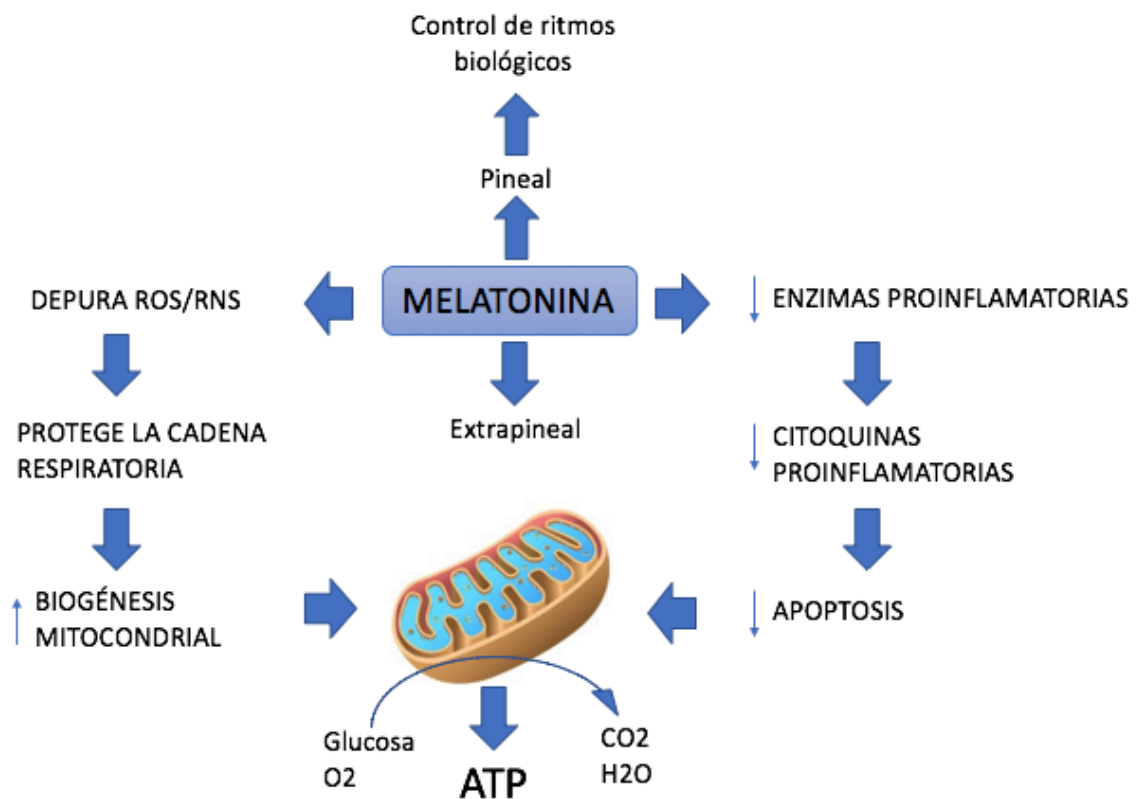


Figura 2: Melatonina: regulación de los ritmos biológicos y control de la homeostasis mitocondrial. (ROS: especies reactivas de oxígeno, RNS: especies reactivas de nitrógeno)

5.1 La melatonina como antiviral

Aunque la melatonina no es un fármaco antiviral propiamente dicho, sus funciones citoprotectoras, antioxidantes e inmunorreguladoras, le confieren actividad antiviral. En este sentido, varios estudios han probado su eficacia frente al virus de la encefalitis equina venezolana (VEE), la hepatitis vírica, la miocarditis vírica, el virus sincitial respiratorio (VSR) y el virus del Ébola, entre otros (18). En estas infecciones la melatonina reduce el estrés oxidativo, la expresión de proteínas apoptósicas y de factores profibróticos y proinflamatorios. Además, tiene un efecto protector en el fallo agudo de pulmón reduciendo el acúmulo de neutrófilos y macrófagos, y los niveles de citocinas proinflamatorias como el $TNF\alpha$ y la IL-6, que producen del daño tisular (18).

Los coronavirus son una extensa familia de virus que pueden causar enfermedades graves y potencialmente mortales en los seres humanos como el síndrome respiratorio de oriente medio (MERS) y el síndrome respiratorio agudo severo (SRAS) (19). La morfología del virus es redonda, ovalada o polimórfica, tiene un diámetro de 60 a 140nm y su membrana extracelular, contiene unas glicoproteínas en punta que se asemejan a una corona y son las que confieren la tipificación (20). De su cobertura extracelular destaca una proteína de espiga (S), densamente glucosilada que posibilita la entrada del virus en las células huésped. Además, le permite unirse con gran afinidad al receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ECA 2), que se expresa en los neumocitos de tipo II (20). Este receptor es importante porque es el sitio de unión de la ECA2, la cual en condiciones normales promueve la defensa pulmonar mediante respuestas antifibróticas, antioxidantes y antiinflamatorias. Cuando el virus se une a este receptor, lo bloquea aboliendo la defensa pulmonar producida por la ECA2, y promueve una respuesta profibrótica, prooxidante y proinflamatoria favorecida por la activación de catepsinas. Las catepsinas son unas proteínas con actividad proteolítica que favorecen la entrada masiva del virus en las células. El RNA viral penetra así en las células del tracto respiratorio superior e inferior, y lleva a cabo la traducción de proteínas virales (21).

Se ha propuesto que la melatonina es un agente antiviral eficaz en la infección por el coronavirus debido su efector inhibidor del complejo receptor de la ECA2 con el SARS-CoV-2 durante la inclusión viral (22). Esto podría explicar por qué en 11.000 pacientes

con alto riesgo de exposición a partículas de COVID se evidenció que el tratamiento con melatonina redujo la tasa de infección (23) (Figura 3).

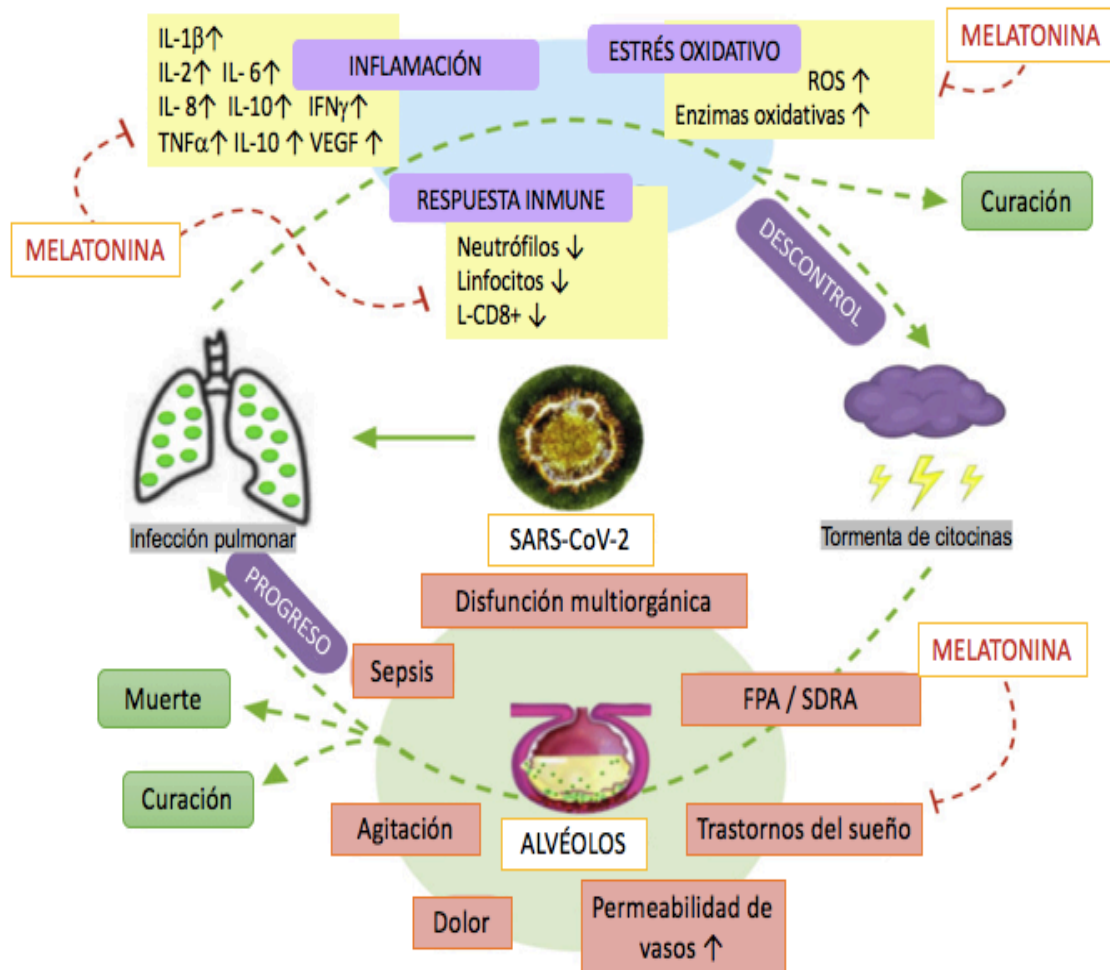


Figura 3: participación de la melatonina en el proceso patológico del COVID-19 (FPA: fallo pulmonar agudo / SDRA: síndrome de distrés respiratorio agudo).

La infección pulmonar por SARS-CoV-2 sumada a una respuesta inmune suprimida, la inflamación sistémica y el aumento continuo del estrés oxidativo, sin suficiente capacidad compensadora del organismo, desencadenan una tormenta de citocinas. Al ser el huésped incapaz de regular todos estos mecanismos por sí sólo, se planteó la utilidad de la melatonina para potenciar las respuesta antioxidante y antiinflamatoria, y así contrarrestar el efecto inmunosupresor del virus (2).

5.2 Aplicación de la melatonina en la sepsis.

Como frente a cualquier infección, el organismo desencadena una respuesta inmunológica. Cuando el virus es inhalado, infecta las células epiteliales del tracto respiratorio y las células dendríticas lo procesan, lo fagocitan y lo presentan a las células T de la inmunidad innata. Estos linfocitos atacan las células epiteliales infectadas y las células T citotóxicas producen y liberan citocinas proinflamatorias que desencadenarán la apoptosis celular (24). Tanto el agente patógeno como la apoptosis masiva amplifican la respuesta inmunitaria. Esto conlleva una producción elevada de citocinas y un reclutamiento de las células de la inmunidad que aumenta el daño tisular y conlleva a fallo agudo pulmonar, que se traduce clínicamente en un síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA) (25). Ahora bien, una de las funciones de la melatonina radica en su capacidad reguladora del sistema inmune, de manera que aumenta la respuesta inmunitaria frente al patógeno y promueve la proliferación y maduración de células Natural Killer (NK), linfocitos T y B, granulocitos y monocitos (26).

Un elemento importante implicado en la respuesta inmune que se desencadena frente a la infección respiratoria es el inflammasoma NOD-like receptor 3 (NLRP3). El virus se une a su receptor, y al activarlo, amplifica la respuesta inflamatoria mediante la producción de NF- κ B, IL-1 β , IL-18, caspasas, histonas, mt-ROS y otras moléculas reactivas de inflamación y oxidación (27). Esto apoya el uso de la melatonina como medida terapéutica en el fallo agudo pulmonar o SDRA, puesto que su acción reguladora inhibe el NLRP3 (28). La melatonina mejora significativamente los síntomas del fallo agudo de pulmón y del SDRA, tales como el edema y la hemorragia intrapulmonar, al reducir la respuesta hiperinflamatoria mediante la inhibición del inflammasoma NLRP3 (28). Por todo ello, la melatonina podría tener grandes implicaciones al atenuar el desarrollo de la infección por SARS-CoV-2 por actividad inmunomoduladora.

La expresión de sintomatología clínica en la COVID-19 resulta de dos procesos fisiopatológicos interrelacionados (29): el efecto citopático directo, resultante de la infección viral, y la respuesta inflamatoria no regulada del huésped, donde se produce una exagerada inflamación sistémica similar al que produce la sepsis por activación de cascadas de citocinas. En las dos, el tratamiento con melatonina puede tener efectos terapéuticos beneficiosos.

La superposición de estos dos procesos fisiopatológicos se traduce fenotípicamente en una evolución en 3 etapas de la enfermedad (29): el estadio I, o fase temprana, es el resultado de la replicación viral y condiciona el efecto citopático directo y la activación de la respuesta inmune innata. Se caracteriza por la estabilidad clínica con síntomas leves: tos, fiebre, astenia, cefalea, mareos, mialgias, dolor abdominal, diarrea, náuseas, vómitos... asociados a linfopenia, tiempo de protrombina alargado y elevación de dímero D y LDH (30). Algunos pacientes se mantienen en esta fase y evolucionan de forma favorable hasta la autolimitación del cuadro. Sin embargo, otros pacientes, evolucionan a la siguiente fase. El estadio II, o fase pulmonar, es resultado de la activación de la respuesta inmune adaptativa que resulta en una reducción de la viremia, pero el inicio de una cascada inflamatoria capaz de causar daño tisular. Se caracteriza por un empeoramiento de la afección respiratoria con la aparición de disnea, que puede condicionar insuficiencia respiratoria aguda asociada al empeoramiento de la linfopenia y elevación moderada de la proteína C reactiva (PCR) y las transaminasas (29). Finalmente, tiene lugar un tercer estadio, o fase hiperinflamatoria, caracterizado por insuficiencia multiorgánica fulminante con empeoramiento del compromiso pulmonar, resultado de una respuesta inmune no regulada que desencadena la tormenta de citoquinas (29).

La respuesta inmune desregulada tiene una etapa de inmunosupresión que sigue a la fase proinflamatoria. Se produce un agotamiento funcional de linfocitos periféricos, sobre todo linfocitos T CD4 y CD8, lo que conlleva un elevado riesgo de desarrollar una sobreinfección bacteriana secundaria (17,31,32). El mecanismo productor de esta linfopenia no se ha dilucidado. Estudios previos del SARS-CoV encontraron partículas virales en los linfocitos T aislados de sangre periférica, bazo, ganglios linfáticos y tejido linfoide de varios órganos, por lo que una hipótesis razonable es que el SARS-CoV-2 podría infectar directamente a los linfocitos, con lo que debilitaría la respuesta antiviral (33,34).

Otra consideración importante es el estado de hipercoagulabilidad producido tanto por el efecto citopático del virus en el endotelio como por la respuesta inflamatoria sistémica. Este puede traducirse en la formación de microtrombosis con oclusión de pequeños vasos del lecho vascular pulmonar, que contribuyen al empeoramiento de la

hipoxia por alteración de la relación ventilación/perfusión y asociarse a manifestaciones de coagulación intravascular diseminada (35). Todo ello agrava al entorno pro-trombótico que la COVID-19 genera (29,32,36,37) (Figura 4).

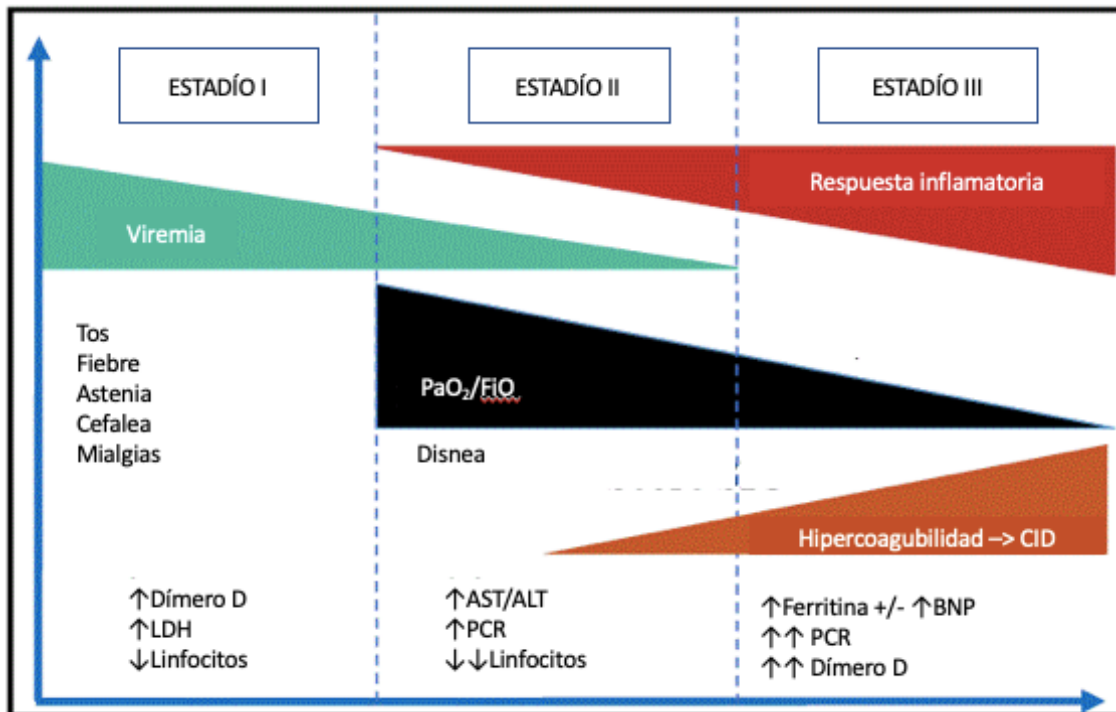


Figura 4: CID: Coagulación intravascular diseminada; LDH: Lactato deshidrogenasa; PCR: Proteína C reactiva; AST: Aspartato aminotransferasa; ALT: Alanino aminotransferasa; BNP: Péptido natriurético cerebral (29).

La inflamación sistémica que produce el SARS-CoV-2 es comparable a la que ocurre en la sepsis. Por este motivo, la melatonina se postula de nuevo como una potencial opción terapéutica. El estado inflamatorio sistémico producido por el SARS-CoV-2 y la sepsis, activa un factor de transcripción, el nuclear kappa B (NF- κ B), que actúa en el núcleo permitiendo una rápida inducción de genes mediadores de inflamación, entre los que se incluyen citoquinas, iNOS, COX 2, moléculas de adhesión, sustancias depresoras miocárdicas y proteínas de choque térmico (38). La melatonina bloquea directamente el NF- κ B y la sobreexpresión de otros factores como el c-Fos o la metaloproteinasa de matriz 3 (MMP-3), responsables de la producción de citocinas profibróticas y proinflamatorias en el fallo agudo de pulmón (39,40).

La sepsis produce disfunción mitocondrial que favorece el progreso hacia el fallo multiorgánico y la muerte. Además del aumento de la iNOS, la sepsis se acompaña de una elevación de iNOS mitocondrial (i-mtNOS) y del óxido nítrico (NO●) mitocondrial, con la consiguiente producción del anión peroxinitrito (ONOO⁻), lesión oxidativa/nitrosativa y depleción del glutatión (GSH). Como consecuencia, se inhibe la actividad de la cadena respiratoria mitocondrial responsable de la producción de ATP fundamental para la célula, precipitando la muerte celular. La melatonina contrarresta la disfunción mitocondrial durante el shock séptico, al inhibir la expresión de la iNOS y de la i-mtNOS. Además, restaura el recambio mitocondrial de GSH, reduce la producción de ROS/RNS, mejora la actividad de la cadena respiratoria y elevando la síntesis de ATP. Estos efectos favorecen, en la práctica clínica, la prevención del fallo multiorgánico y un aumento significativo de la supervivencia (41).

Entre los genes regulados por el NF-kB se encuentran también aquellos que codifican enzimas antioxidantes, como la superóxido dismutasa (SOD) y la glutatión peroxidasa (GPx). Es decir, la respuesta inflamatoria produce activación de genes proinflamatorios, como la iNOS, y genes antioxidantes, como SOD y GPx, posiblemente para contrarrestar el enorme estrés oxidativo que acompaña a la inflamación. Por ello, cualquier antiinflamatorio que frene la expresión de la iNOS, bloqueando el NF-kB, disminuirá también la expresión de los genes antioxidantes (41). Sin embargo, una ventaja adicional del uso de la melatonina como antiinflamatorio es que no sólo frena la iNOS, sino que aumenta a su vez la SOD y GPx, de ahí que pueda ser de gran utilidad para tratar patologías con estrés oxidativo exacerbado como la COVID-19 (Figura 5).

Otra vía fundamental que desencadena la reacción inflamatoria, es la de la ciclooxigenasa 2 (COX-2), responsable de la síntesis de prostaglandinas y otros eicosanoides proinflamatorios. Los antiinflamatorios de elección, es decir, aquellos con efectos secundarios mínimos, son aquellos capaces de inhibir la COX-2 sin afectar a la forma constitutiva de esta enzima, la COX-1. La melatonina previene específicamente la activación de la COX-2 sin afectar a la COX-1, otra razón añadida a su beneficio terapéutico (42).

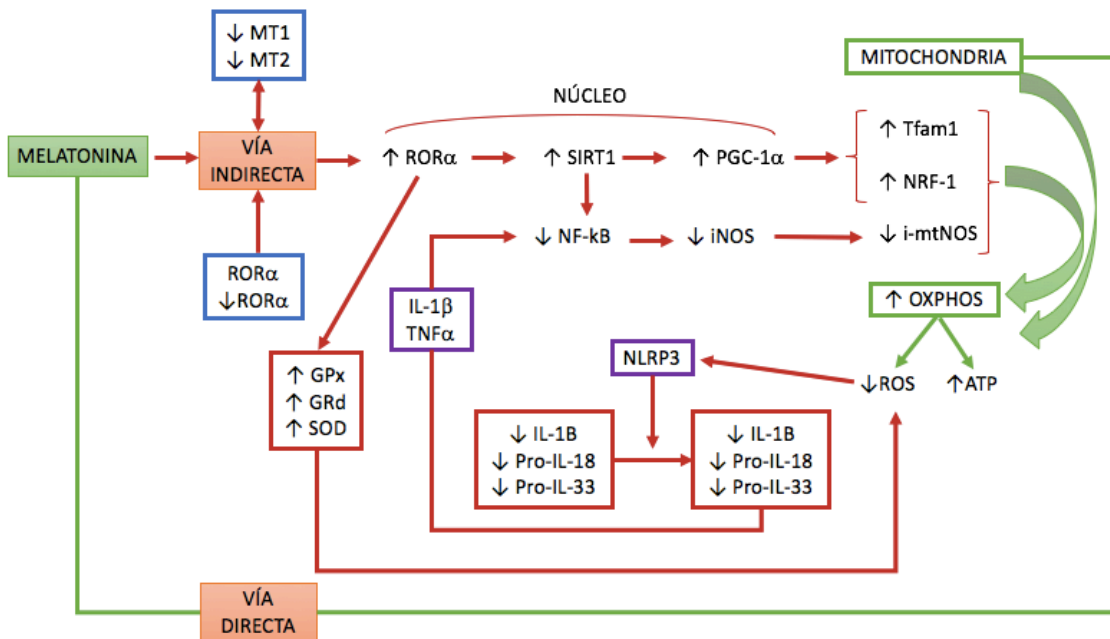


Figura 5: Mecanismo de acción antiinflamatoria de la melatonina. Este se lleva a cabo principalmente, a través de la interacción con los receptores nucleares ($ROR\alpha$) al inhibir la respuesta inflamatoria mediada por el $NF-kB$, y aumenta la función mitocondrial.

No sólo la melatonina sino también sus metabolitos endógenos, sobre todo aquellos producidos en el cerebro, tienen también importantes acciones antioxidantes y antiinflamatorias. Estos son la AFMK y la (AMK. Incluso el AMK es un inhibidor más potente que la propia melatonina de la actividad de la nNOS en el cerebro, lo que la convierte en una molécula altamente específica frente a la excitotoxicidad, pues cuando administramos melatonina, ésta es capaz de cruzar la barrera hematoencefálica y llegar al cerebro, donde es metabolizada a AMK y produce su actividad anti-excitotóxica tan importante (41).

Se ha visto que las citocinas y quimiocinas proinflamatorias, incluyendo el factor de necrosis tumoral ($TNF\alpha$), las interleucinas 1β y 6, el factor estimulante de colonias de granulocitos, la proteína 10 inducida por el interferón gamma y la proteína-1 quimioatrayente de los macrófagos, están significativamente elevadas en los pacientes con COVID-19 (43). Como ocurre en la sepsis, esta cascada proinflamatoria desempeña una función esencial en la inmunopatología de la COVID-19, actuando tanto por el efecto

citopático directo del virus en los tejidos como por la tormenta de citocinas desencadenada, y conlleva a la disfunción orgánica múltiple.

Es importante tener en cuenta la melatonina durante estos procesos inflamatorios, ayuda a la restitución de la homeostasis gracias a sus muchas capacidades como son la antioxidante, citoprotectora, inmunomoduladora y anti-inflamatoria (22).

5.3 Prevención del estrés oxidativo

Recientemente se ha demostrado que en 1200 pacientes que tomaron melatonina para corregir patologías del sueño, tuvieron menos probabilidades de infectarse por el SARS-CoV-2, lo que sugiere que la indolamina posea un efecto citoprotector (44). Además, está bien demostrado que la melatonina contrarresta el daño oxidativo y las complicaciones respiratorias relacionadas con la edad, lo que puede ayudar a preservar la función respiratoria en caso de infección (44–46).

La actividad antioxidante de la melatonina se debe principalmente a su capacidad para la depuración de radicales libres. Debido a su estructura química indólica, y a un potencial redox elevado, la melatonina cede electrones fácilmente, lo que hace que actúe como un potente agente reductor. La melatonina depura el radical $\bullet\text{OH}$ dando lugar a la 3-OH-melatonina cíclica, que se excreta por la orina y puede emplearse como marcador de estrés oxidativo. Los efectos de la melatonina son mucho más efectivos que los de otros antioxidantes clásicos, como las vitaminas E y C, o la N-acetilcisteína, lo cual en parte proviene de sus propiedades físico-químicas, ya que es una molécula tanto liposoluble como hidrosoluble que alcanza todos los compartimentos subcelulares, incluyendo la membrana, el núcleo y la mitocondria, en concentraciones suficientes para desempeñar la función antioxidante. Si tenemos en cuenta que la mitocondria es la principal fuente de radicales libres de la célula, la presencia de melatonina en esta organela asegura un control permanente del estado redox mitocondrial.

Además, la melatonina aumenta la actividad de las enzimas antioxidantes GPx, GRd y SOD, manteniendo unos niveles de GSH dentro de la célula y de la mitocondria adecuados. La melatonina también aumenta el contenido intracelular de GSH, ya que activa la γ -glutamylcistein sintasa, la enzima limitante de su síntesis. Tras la interacción de la indolamina con el anión superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) o con $\bullet\text{OH}$, la melatonina se transforma en otros metabolitos que tienen, a su vez, capacidad antioxidante, la AFMK y la AMK. Todo ello constituye la denominada cascada oxidante de la melatonina (Figura 6). Se calcula que una molécula de melatonina, a través de esta cascada, puede depurar varias especies reactivas de oxígeno. Por esta razón, la melatonina es altamente eficaz como antioxidante. Esta actividad, sumada a su efecto como regulador endógeno de la

expresión de las enzimas antioxidantes contribuyen a que se considere la melatonina como el antioxidante endógeno más potente del organismo.

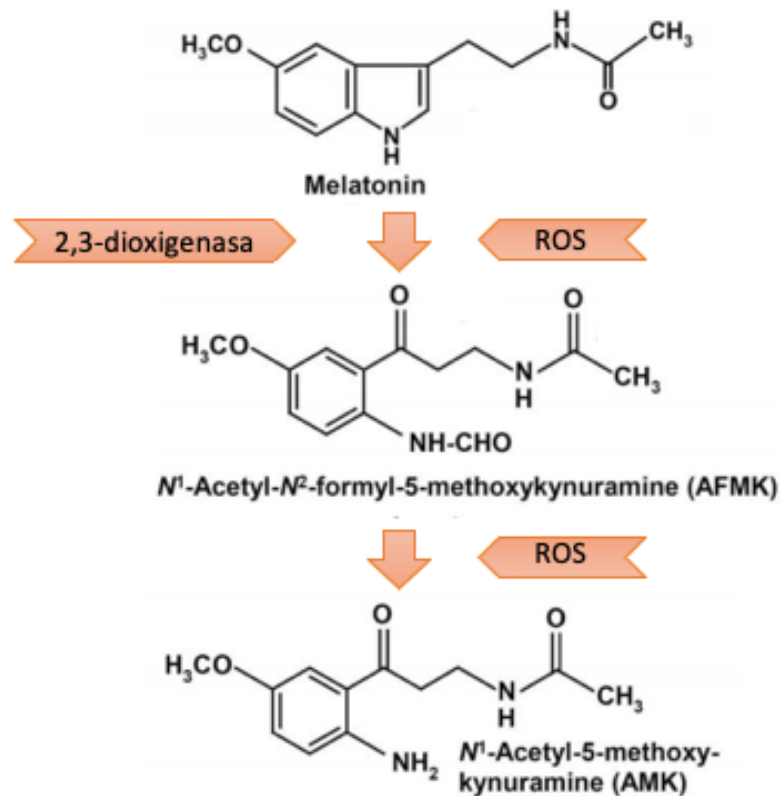


Figura 6: Cascada antioxidante de la melatonina y de sus metabolitos AFMK y AMK. Cada vez que la melatonina depura un radical libre, se transforma en metabolitos (AFMK y AMK) que tienen también capacidad antioxidante. Eso hace que una molécula de melatonina elimine como mínimo tres moléculas de radicales libres, convirtiéndose en el mejor antioxidante endógeno. ROS: especie reactiva dependiente del oxígeno.

La melatonina también depura especies reactivas de nitrógeno (RNS), como el ONOO⁻. Estos presentan una alta toxicidad, por lo que su eliminación proporciona una defensa antioxidante más eficaz que el GSH o las vitaminas antioxidantes (Figura 7).

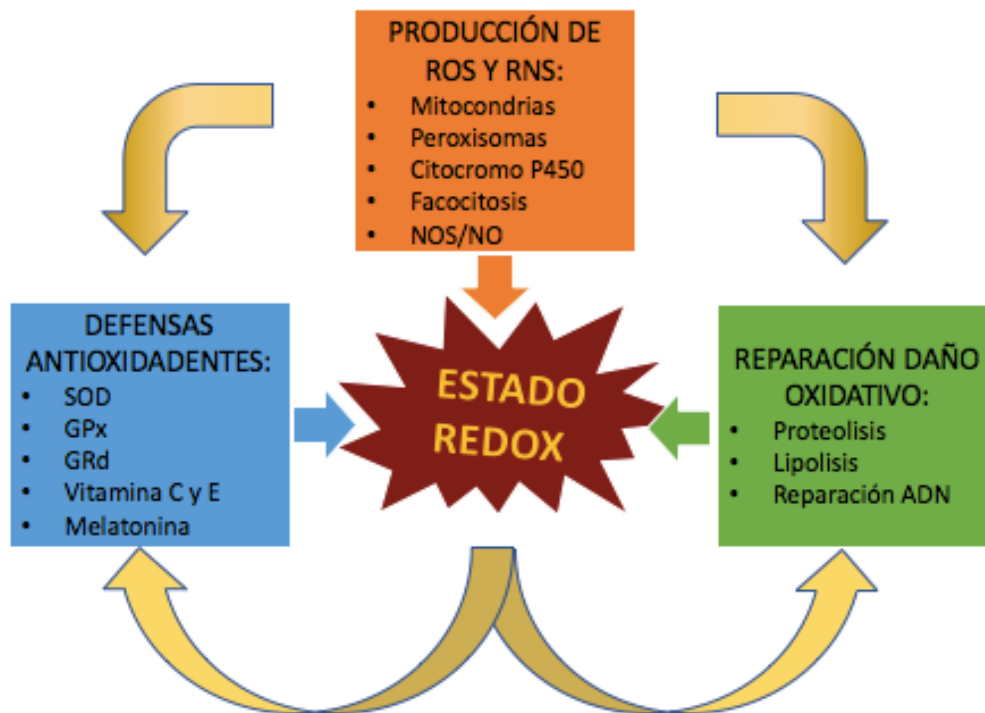


Figura 7: Interrelaciones entre los procesos de generación y eliminación de radicales libres, y aquellos de reparación del daño que en su caso dichos radicales ocasionen.

La importancia de la melatonina como antioxidante en la COVID-19 se potencia por varias características más: 1) es lipofílica e hidrofílica, atravesando los compartimentos biológicos, por tanto, estando disponible para todas las células y tejidos. Además se distribuye por todos los compartimentos intracelulares, siendo especialmente alta su concentración en el núcleo y mitocondria. 2) Muchos órganos pueden producir melatonina, lo que en actividad antioxidante los hace independientes de sus niveles circulantes. 3) Tiene baja toxicidad. Al encontrarse de forma natural en nuestro organismo, la melatonina puede consumirse hasta los 100 miligramos, como mínimo, sin provocar efectos adversos, lo que supone un importante beneficio terapéutico teniendo un buen perfil de seguridad para su empleo (44,47,48). Varios estudios llevados a cabo tanto en animales como en humanos documentan que el uso de la melatonina a corto plazo es seguro, incluso en dosis extremas, y no se ha demostrado hasta el momento actual que la melatonina exógena posea efectos adversos graves (49). Recientes estudios describen su potencial uso terapéutico en la COVID-19 por su importante capacidad antioxidante y antiinflamatoria (2).

La melatonina también protege contra el daño oxidativo inducido por gran variedad de agentes tóxicos que producen radicales libres durante el metabolismo mitocondrial.

La mitocondria es la organela que más radicales libres produce dentro de la célula, ya que es donde más oxígeno se consume. Se protege de ellos mediante el GSH citosólico, que se mantiene a niveles adecuados gracias a la GPx y la GRd. La melatonina además de su efecto antioxidante directo dentro de la mitocondria, aumenta los niveles de GSH. También disminuye el consumo de oxígeno en la mitocondria, mantiene el control respiratorio, el cociente ADP:O, aumenta la actividad de los complejos respiratorios, lo que eleva la producción de ATP y disminuye ligeramente el potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\psi_m$), con el consiguiente descenso del escape de electrones y de producción de radicales superóxido ($O_2^{\bullet-}$) y de peróxido de hidrógeno (H_2O_2). En definitiva, la melatonina desempeña un papel esencial en el mantenimiento de la homeostasis mitocondrial, contrarrestando el estrés oxidativo en el momento en que se produce y, por tanto, actuando como protector de la mitocondria (Figura 8).

Finalmente, se ha descrito que la melatonina promueve la mitofagia, que es una degradación selectiva de la mitocondria mediada por autofagia. Este proceso es crítico para la supervivencia celular, ya que, la acumulación de daño mitocondrial puede generar la liberación de radicales libres de oxígeno que inducen piroptosis vía inflammasoma NLRP3 (50).

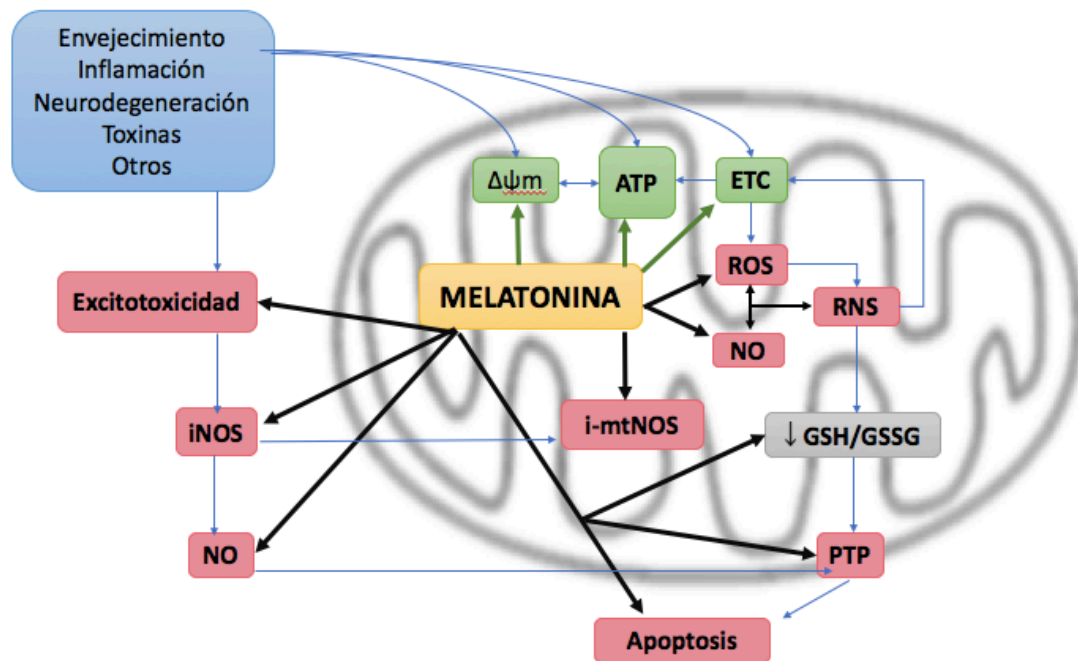


Figura 8: La melatonina entra en la mitocondria donde protege frente al daño oxidativo e inflamatorio, lo que conlleva aumento de la función mitocondrial, reducción de los radicales libres, aumento del ATP, y neutralización de la apoptosis.

Toda esta amplia variedad de efectos protectores de la función mitocondrial no se han conseguido con ningún otro antioxidante, incluyendo las vitaminas C y E, o la N-acetilcisteína, incluso utilizándolos a concentraciones mucho mayores que las de la indolamina (51). Todo ello avala que las mitocondrias son dianas específicas para los efectos de la melatonina, y su alta eficacia se potencia porque la melatonina no está operando sola, ya que en la mitocondria también actúan sus metabolitos AFMK y AMK en la cascada antioxidante anteriormente mencionada (51).

Por lo tanto, dado que la mitocondria participa en la respuesta inmune innata y que una de las funciones de la melatonina es preservar su estructura, integridad y funcionalidad, sugiere que pueda ser una potente herramienta de protección en los casos de infección vírica aguda (52). Además, tanto la inflamación como el estrés oxidativo están íntimamente relacionados con la patogenia de la infección por SARS-CoV-2 (22,53).

5.4 Melatonina, COVID y comorbilidades

La identificación de bajas concentraciones de melatonina en pacientes de edad avanzada (6,7) o que padecen comorbilidades como obesidad (8,9), diabetes (9,10), hipertensión (11,12) o enfermedad cardiovascular (13), sugiere una asociación entre la falta de melatonina y mayor gravedad en el desarrollo de la COVID-19 (14,15).

El envejecimiento es un proceso biológico que contribuye al incremento de morbilidad y mortalidad cardiovascular, y a su vez, la obesidad y la diabetes son en sí mismos factores de riesgo cardiovascular. En este sentido, Wu et al han demostrado recientemente que la edad avanzada está asociada a un mal pronóstico de la enfermedad por SARS-CoV-2 puesto que la respuesta inmunitaria y las funciones fisiológicas están enlentecidas en este tipo de pacientes (15). Recientes estudios muestran que niveles altos de melatonina en plasma tienen un efecto beneficioso en el envejecimiento y la salud (54). Estos hallazgos apoyan el uso de la melatonina en pacientes mayores que padecen la COVID-19 (55).

La melatonina tiene efectos beneficiosos frente a la obesidad reduciendo el depósito de grasa visceral intraabdominal y el peso corporal. Esto es gracias a que participa en la regulación del uso de las reservas energéticas (56). Respecto a la diabetes, también se describen niveles de melatonina disminuidos en pacientes con resistencia a la insulina o intolerantes a la glucosa, y existe una interacción funcional entre la melatonina y la insulina (9). También es un hecho clínicamente bien aceptado que los pacientes con hipertensión, obesidad y diabetes son los más propensos a desarrollar cuadros severos de la infección por SARS-CoV-2 (14) y que los pacientes que presentan estas comorbilidades tienen un sistema inmunitario deficiente (15). En consecuencia, el uso de la melatonina en estos pacientes de manera preventiva puede estar indicado puesto que potencia la defensa del sistema inmunitario y posee propiedades antiinflamatorias y antioxidantes (55).

5.5 Ensayos clínicos con melatonina para tratar la infección por SARS-CoV-2

Por el momento, existe un número limitado de estudios clínicos que evalúan la melatonina como agente terapéutico contra el SARS-CoV-2, sin embargo los resultados están siendo hasta ahora prometedores (57). Los ensayos clínicos aleatorizados son de elección para establecer si existe o no un beneficio clínico en el uso de la melatonina en esta patología (18). Aunque se han llevado a cabo varios ensayos con resultados satisfactorios en pacientes ingresados en Unidades de Cuidados Intensivos (UCIs) utilizando la administración de la melatonina por vía oral con dosis de 3, 6 y 10 mg (58–60). Además, se ha comprobado el alto perfil de seguridad del tratamiento con melatonina en humanos sanos. Por ello, es conveniente el diseño de nuevos ensayos que utilicen la melatonina para tratar pacientes con COVID-19 incluso a dosis mayores de 10 mg.

Actualmente se están llevando a cabo estudios que puedan demostrar de manera sólida la hipótesis de que el uso de la melatonina aporta beneficios terapéuticos en el tratamiento de la COVID-19. En España, Acuña-Castroviejo et al (45) han diseñado un ensayo clínico que pretende emplear una fórmula de perfusión intravenosa de melatonina en pacientes que padecen COVID-19 y que han sido ingresados en la UCI. Recientemente se ha aprobado por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS). Su objetivo consiste en determinar la dosis necesaria y su eficacia para el tratamiento frente a la COVID-19. Otro ensayo clínico que plantea objetivos e hipótesis similares y que también administra melatonina vía intravenosa en pacientes con COVID-19 ingresados en UCI, se encuentra en desarrollo de la fase II y es un ensayo clínico doble ciego, unicéntrico, aleatorizado y controlado por placebo (61). Estudia la disminución de la tasa de mortalidad y del número de días de ingreso en la UCI en la prevención del desarrollo de sepsis en pacientes infectados por SARS-CoV-2. Se lleva a cabo en el *Instituto de Investigación del Hospital Universitario de la Paz* donde se desarrollan otros dos estudios más. Uno es un ensayo clínico aleatorizado y multicéntrico que pretende evaluar la eficacia de la administración de 2 mg de melatonina como profilaxis de la COVID-19 en pacientes de alto riesgo (62), y otro, que estudia la eficacia de la melatonina como profilaxis de la COVID-19 en personal sanitario (63).

En Estados Unidos también se han planteado otros tres estudios. El primero de la *Universidad de Nueva York*, propone analizar el perfil terapéutico de la melatonina frente a un placebo en relación con los síntomas del COVID-19, además de analizar la tasa de mortalidad y esclarecer si los efectos antioxidantes y antiinflamatorios de la melatonina pueden reducir la severidad y el progreso del cuadro sintomático de la infección (64). El segundo, llevado a cabo por Reena Mehra en la *Cleveland Clinic*, evalúa el tratamiento de melatonina y toremifeno o sólo melatonina durante 15 días en pacientes adultos con severidad moderada de la enfermedad, valorando la mejoría de los síntomas de fatiga, fiebre, tos y disnea y de signos clínicos frente al uso del placebo (65). Finalmente, en *Lancaster General Hospital* en otro estudio similar al anterior, se utiliza la combinación de melatonina y vitamina C para estudiar los beneficios en pacientes infectados por COVID-19 (66).

En La *Unidad Temporal COVID-19 en el Centro Citibanamex* de ciudad de México (México) se está desarrollando un ensayo, ANTIOX-COVID, que plantea la administración de 50 mg de melatonina cada 24h en pacientes COVID con o sin shock séptico junto a vitamina C y E, N-acetilcisteína y pentoxifilina. Su objetivo principal es estudiar el efecto antioxidante de la melatonina para reducir el estrés oxidativo, la necesidad de ventilación mecánica, y por ello, minimizar el riesgo de neumonía por SARS-CoV-2 en pacientes infectados. También valorará el efecto sinérgico de la melatonina con las vitaminas C y E, la N-acetilcisteína y la pentoxifilina (67).

En Brasil se está estudiando el efecto terapéutico antiapoptótico, antiinflamatorio y antioxidante del ramelteon (8 mg), un agonista de los receptores de la melatonina, en pacientes con fallo agudo de pulmón. Este ensayo propone que el ramelteon pueda minimizar el riesgo de progresión y tiempo de hospitalización en pacientes con COVID-19 (68).

Y en Irán se llevan a cabo otros dos estudios que valoran la eficacia de la la melatonina como tratamiento en la infección por este coronavirus. El primero, coordinado por el Shahid Mohammadi Hospital (Bandar Abbas, Irán), investiga la recuperación en pacientes con síntomas clínicos, y la variación de la saturación de O₂ y los niveles séricos de parámetros inflamatorios (CRP, TNF-A, IL-1B e IL-6) en pacientes COVID que han recibido melatonina (69). El segundo ensayo clínico desarrollado en Teheran, estudia el

papel inhibidor de la melatonina en el inflamasoma NLRP3, responsable de la activación de numerosos procesos inflamatorios. Sus hipótesis principales sugieren que la melatonina pueda ser un potencial tratamiento coadyuvante antiviral en terapias que traten la COVID-19 (70).

Los resultados de todos estos estudios ayudarán a esclarecer el beneficio de la COVID-19. Además, su amplio rango de seguridad y su implicación protectora frente a procesos inflamatorios y oxidativos, sugieren que la indolamina pueda tener una acción terapéutica beneficiosa importante en la prevención y la evolución del curso clínico de esta enfermedad. Por esto, es preciso que se completen y se diseñen otros estudios que puedan ampliar el conocimiento de los mecanismos de acción de la melatonina aplicados a la COVID-19.

6. CONCLUSIONES

La melatonina como tratamiento adyuvante en el COVID-19 puede tener efectos beneficiosos por su capacidad antiinflamatoria, antioxidante y reguladora de la respuesta inmunitaria en los procesos infecciosos respiratorios. En este sentido, varios estudios experimentales sugieren que la indolamina puede reducir de manera significativa los niveles de citocinas circulantes a nivel sistémico y disminuir la producción del virus de estas citoquinas pro-inflamatorias en la COVID-19. Además, su buen perfil de seguridad permite un uso con un margen amplio de dosis, y sin necesidad de monitorización. Su excepcional tolerabilidad permite tratamientos con dosis elevadas y de manera preliminar parece que puede estar indicada en la enfermedad por COVID-19 mientras no exista antiviral específico frente al virus.

En la actualidad se están realizando varios ensayos clínicos que comprueben su eficacia frente a esta enfermedad de reciente aparición. A pesar de los buenos resultados preliminares, deben finalizarse para que puedan enunciarse evidencias sólidas. La gran cantidad de patologías tratables con melatonina, víricas o no, indica que su eficacia no es debida a su especificidad por ciertos patógenos concretos, sino por su potente acción de supresión de la respuesta inflamatoria exagerada del organismo frente a la infección, lo que no excluye que pueda tener, además, algún efecto directo frente a moléculas víricas de la COVID-19.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Thomas-Rüddel D, Winning J, Dickmann P, Quart D, Kortgen A, Janssens U, et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): update for anesthesiologists and intensivists. *Anaesthesist*. 2020;24:1-10.
2. Zhang R, Wang X, Ni L, Di X, Ma B, Niu S, et al. COVID-19: Melatonin as a potential adjuvant treatment. *Life Sci*. 2020;250:117583.
3. Tordjman S, Chokron S, Delorme R, Charrier A, Bellissant E, Jaafari N, et al. Melatonin: Pharmacology, Functions and Therapeutic Benefits. *Curr Neuropharmacol*. 2017;15(3):434-43.
4. Dubocovich ML. Pharmacology and function of melatonin receptors. *FASEB J*. 1988;2(12):2765-73.
5. Amaral FG do, Cipolla-Neto J. A brief review about melatonin, a pineal hormone. *Arch Endocrinol Metab*. 2018;62(4):472-9.
6. Duffy JF, Zitting K-M, Chinoy ED. Aging and Circadian Rhythms. *Sleep Med Clin*. 10(4):423-34.
7. Pandi-Perumal SR, BaHammam AS, Brown GM, Spence DW, Bharti VK, Kaur C, et al. Melatonin antioxidative defense: therapeutical implications for aging and neurodegenerative processes. *Neurotox Res*. 2013;23(3):267-300.
8. Imenshahidi M, Karimi G, Hosseinzadeh H. Effects of melatonin on cardiovascular risk factors and metabolic syndrome: a comprehensive review. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2020;393(4):521-36.
9. Cipolla-Neto J, Amaral FG, Afeche SC, Tan DX, Reiter RJ. Melatonin, energy metabolism, and obesity: a review. *J Pineal Res*. 2014;56(4):371-81.
10. Reutrakul S, Sumritsopak R, Saetung S, Chanprasertyothin S, Chailurkit L-O, Anothaisintawee T. Lower nocturnal urinary 6-sulfatoxymelatonin is associated with more severe insulin resistance in patients with prediabetes. *Neurobiol Sleep Circadian Rhythms*. 2018;4:10-6.

11. Borghi C, Cicero AFG. Nutraceuticals with a clinically detectable blood pressure-lowering effect: a review of available randomized clinical trials and their meta-analyses. *Br J Clin Pharmacol*. 2017;83(1):163-71.
12. Obayashi K, Saeki K, Tone N, Kurumatani N. Relationship between melatonin secretion and nighttime blood pressure in elderly individuals with and without antihypertensive treatment: a cross-sectional study of the HEIJO-KYO cohort. *Hypertens Res*. 2014;37(10):908-13.
13. Dominguez-Rodriguez A, Abreu-Gonzalez P, Piccolo R, Galasso G, Reiter RJ. Melatonin is associated with reverse remodeling after cardiac resynchronization therapy in patients with heart failure and ventricular dyssynchrony. *Int J Cardiol*. 2016;221:359-63.
14. Madjid M, Safavi-Naeini P, Solomon SD, Vardeny O. Potential Effects of Coronaviruses on the Cardiovascular System: A Review. *JAMA Cardiol*. 2020;5(7):831-40.
15. Wu J, Li W, Shi X, Chen Z, Jiang B, Liu J, et al. Early antiviral treatment contributes to alleviate the severity and improve the prognosis of patients with novel coronavirus disease (COVID-19). *J Intern Med*. 2020;288(1):128-38.
16. Romero A, Ramos E, López-Muñoz F, Gil-Martín E, Escames G, Reiter RJ. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) and Its Neuroinvasive Capacity: Is It Time for Melatonin? *Cell Mol Neurobiol*. 2020;9:1-12.
17. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020;395(10229):1054-62.
18. Vlachou M, Siamidi A, Dedeloudi A, Konstantinidou S, Papanastasiou I. Pineal hormone melatonin as an adjuvant treatment for COVID-19. *Int J Mol Med*. 2021;47(4):47.
19. Mehrzadi S, Karimi MY, Fatemi A, Reiter RJ, Hosseinzadeh A. SARS-CoV-2 and other coronaviruses negatively influence mitochondrial quality control: beneficial effects of melatonin. *Pharmacol Ther*. 2021;224:107825.

20. Abereu MRP, Tejeda JJG, Guach RAD. Características clínico-epidemiológicas de la COVID-19. *Rev Habanera Cienc Médicas*. 2020;19(2):3254.
21. Tai W, He L, Zhang X, Pu J, Voronin D, Jiang S, et al. Characterization of the receptor-binding domain (RBD) of 2019 novel coronavirus: implication for development of RBD protein as a viral attachment inhibitor and vaccine. *Cell Mol Immunol*. 2020;17(6):613-20.
22. Bahrapour Juybari K, Pourhanifeh MH, Hosseinzadeh A, Hemati K, Mehrzadi S. Melatonin potentials against viral infections including COVID-19: Current evidence and new findings. *Virus Res*. 2020;287:198108.
23. Jehi L, Ji X, Milinovich A, Erzurum S, Rubin BP, Gordon S, et al. Individualizing Risk Prediction for Positive Coronavirus Disease 2019 Testing. *Chest*. 2020;158(4):1364-75.
24. Rogers MC, Williams JV. Quis Custodiet Ipsos Custodes? Regulation of Cell-Mediated Immune Responses Following Viral Lung Infections. *Annu Rev Virol*. 2018;5(1):363-83.
25. Yang C-Y, Chen C-S, Yiang G-T, Cheng Y-L, Yong S-B, Wu M-Y, et al. New Insights into the Immune Molecular Regulation of the Pathogenesis of Acute Respiratory Distress Syndrome. *Int J Mol Sci*. 2018;19(2):588.
26. Miller SC, Pandi-Perumal SR, Pandi PSR, Esquifino AI, Cardinali DP, Maestroni GJM. The role of melatonin in immuno-enhancement: potential application in cancer. *Int J Exp Pathol*. 2006;87(2):81-7.
27. Tate MD, Ong JDH, Dowling JK, McAuley JL, Robertson AB, Latz E, et al. Reassessing the role of the NLRP3 inflammasome during pathogenic influenza A virus infection via temporal inhibition. *Sci Rep*. 2016;6(1):27912.
28. Zhang Y, Li X, Grailer JJ, Wang N, Wang M, Yao J, et al. Melatonin alleviates acute lung injury through inhibiting the NLRP3 inflammasome. *J Pineal Res*. 2016;60(4):405-14.
29. Alves Cunha AL, Quispe Cornejo AA, Ávila Hilari A, Valdivia Cayoja A, Chino Mendoza JM, Vera Carrasco O. Breve historia y fisiopatología del covid-19. *Cuad Hosp Clínicas*. 2020;61(1):130-43.

30. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*. 2020;323(13):1239-42.
31. Vabret N, Britton GJ, Gruber C, Hegde S, Kim J, Kuksin M, et al. Immunology of COVID-19: Current State of the Science. *Immunity*. 2020;52(6):910-41.
32. Cecconi M, Forni G, Mantovani A. Ten things we learned about COVID-19. *Intensive Care Med*. 2020;46(8):1590-3.
33. Gu J, Gong E, Zhang B, Zheng J, Gao Z, Zhong Y, et al. Multiple organ infection and the pathogenesis of SARS. *J Exp Med*. 2005;202(3):415-24.
34. Hamming I, Timens W, Bulthuis MLC, Lely AT, Navis GJ, van Goor H. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol*. 2004;203(2):631-7.
35. WHO. Clinical management of severe acute respiratory infection (SARI) when COVID-19 disease is suspected. Interim guidance. *Pediatr Med Rodz*. 2020;16(1):9-26.
36. Shang L, Zhao J, Hu Y, Du R, Cao B. On the use of corticosteroids for 2019-nCoV pneumonia. *Lancet Lond Engl*. 2020;395(10225):683-4.
37. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel AS, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet*. 2020;395(10234):1417-8.
38. Hirano T, Murakami M. COVID-19: A New Virus, but a Familiar Receptor and Cytokine Release Syndrome. *Immunity*. 2020;52(5):731-3.
39. Hazra S, Chaudhuri AG, Tiwary BK, Chakrabarti N. Matrix metalloproteinase 9 as a host protein target of chloroquine and melatonin for immunoregulation in COVID-19: A network-based meta-analysis. *Life Sci*. 2020;257:118096.
40. Habtemariam S, Daglia M, Sureda A, Selamoglu Z, Gulhan MF, Nabavi SM. Melatonin and Respiratory Diseases: A Review. *Curr Top Med Chem*. 2017;17(4):467-88.

41. García JJ, López-Pingarrón L, Almeida-Souza P, Tres A, Escudero P, García-Gil FA, et al. Protective effects of melatonin in reducing oxidative stress and in preserving the fluidity of biological membranes: a review. *J Pineal Res.* 2014;56(3):225-37.
42. Benítez-King G, Valdés-Tovar M, Maya-Ampudia V, Jiménez-Rubio G, Domínguez-Alonso A, Riquelme A, et al. La melatonina como un factor promotor de la diferenciación neuronal: implicaciones en el tratamiento de las demencias. *Salud Ment.* 2013;36(3):193-9.
43. Liu J, Li S, Liu J, Liang B, Wang X, Wang H, et al. Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients. *EBioMedicine.* 2020;55:102763.
44. Acuña-Castroviejo D, Carretero M, Doerrier C, López LC, García-Corzo L, Tresguerres JA, et al. Melatonin protects lung mitochondria from aging. *AGE.* 2012;34(3):681-92.
45. Acuña-Castroviejo D, Escames G, Figueira JC, de la Oliva P, Borobia AM, Acuña-Fernández C. Clinical trial to test the efficacy of melatonin in COVID-19. *J Pineal Res.* 2020;69(3):e12683.
46. Öztürk G, Akbulut KG, Güney Ş. Melatonin, aging, and COVID-19: Could melatonin be beneficial for COVID-19 treatment in the elderly? *Turk J Med Sci.* 50(6):1504-12.
47. Crespo E, Macías M, Pozo D, Escames G, Martín M, Vives F, et al. Melatonin inhibits expression of the inducible NO synthase II in liver and lung and prevents endotoxemia in lipopolysaccharide-induced multiple organ dysfunction syndrome in rats. *FASEB J.* 1999;13(12):1537-46.
48. Hardeland R, Tan D-X. Protection by melatonin in respiratory diseases: valuable information for the treatment of COVID-19. *Melatonin Res.* 2020;3(3):264-75.
49. Andersen LPH, Gögenur I, Rosenberg J, Reiter RJ. The Safety of Melatonin in Humans. *Clin Drug Investig.* 2016;36(3):169-75.

50. Cao S, Shrestha S, Li J, Yu X, Chen J, Yan F, et al. Melatonin-mediated mitophagy protects against early brain injury after subarachnoid hemorrhage through inhibition of NLRP3 inflammasome activation. *Sci Rep.* 2017;7(1):2417.
51. Galano A, Tan DX, Reiter RJ. Melatonin as a natural ally against oxidative stress: a physicochemical examination. *J Pineal Res.* 2011;51(1):1-16.
52. Tan D-X, Hardeland R. Targeting Host Defense System and Rescuing Compromised Mitochondria to Increase Tolerance against Pathogens by Melatonin May Impact Outcome of Deadly Virus Infection Pertinent to COVID-19. *Molecules.* 2020;25(19):4410.
53. Zhang R, Wang X, Ni L, Di X, Ma B, Niu S, et al. COVID-19: Melatonin as a potential adjuvant treatment. *Life Sci.* 2020;250:117583.
54. Hardeland R. Melatonin and the theories of aging: a critical appraisal of melatonin's role in antiaging mechanisms. *J Pineal Res.* 2013;55(4):325-56.
55. Reiter RJ, Abreu-Gonzalez P, Marik PE, Dominguez-Rodriguez A. Therapeutic Algorithm for Use of Melatonin in Patients With COVID-19. *Front Med.* 2020;7:226.
56. Prado NJ, Ferder L, Manucha W, Diez ER. Anti-Inflammatory Effects of Melatonin in Obesity and Hypertension. *Curr Hypertens Rep.* 2018;20(5):45.
57. Kleszczyński K, Slominski AT, Steinbrink K, Reiter RJ. Clinical Trials for Use of Melatonin to Fight against COVID-19 Are Urgently Needed. *Nutrients.* 2020;12(9):2561.
58. Bourne RS, Mills GH, Minelli C. Melatonin therapy to improve nocturnal sleep in critically ill patients: encouraging results from a small randomised controlled trial. *Crit Care.* 2008;12(2):R52.
59. Mистраletti G, Umbrello M, Sabbatini G, Miori S, Taverna M, Cerri B, et al. Melatonin reduces the need for sedation in ICU patients: a randomized controlled trial. *Minerva Anesthesiol.* 2015;81(12):1298-310.
60. Mистраletti G, Sabbatini G, Taverna M, Figini MA, Umbrello M, Magni P, et al. Pharmacokinetics of orally administered melatonin in critically ill patients. *J Pineal Res.* 2010;48(2):142-7.

61. Rodríguez-Rubio M, Figueira JC, Acuña-Castroviejo D, Borobia AM, Escames G, de la Oliva P. A phase II, single-center, double-blind, randomized placebo-controlled trial to explore the efficacy and safety of intravenous melatonin in patients with COVID-19 admitted to the intensive care unit (MelCOVID study): a structured summary of a study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. 2020;21(1):699.
62. García IG, Rodríguez-Rubio M, Mariblanca AR, de Soto LM, García LD, Villatoro JM, et al. A randomized multicenter clinical trial to evaluate the efficacy of melatonin in the prophylaxis of SARS-CoV-2 infection in high-risk contacts (MeCOVID Trial): A structured summary of a study protocol for a randomised controlled trial. *Trials*. 2020;21(1):466.
63. Instituto de Investigación Hospital Universitario La Paz. Multicenter Randomized Controlled Trial of the Efficacy of Melatonin in the Prophylaxis of SARS-coronavirus-2 Infection Among High Risk Contacts. clinicaltrials.gov; 2020. Report No.: NCT04353128.
64. Margarita L. Dubocovich. A Pilot Placebo-controlled Randomized Double-blind Trial of Melatonin in Outpatients With COVID-19 Infection. clinicaltrials.gov; 2020. Report No.: NCT04474483.
65. Reena Mehra. Selective Estrogen Modulation and Melatonin in Early COVID-19. clinicaltrials.gov; 2020. Report No.: NCT04531748.
66. Lancaster General Hospital. The Effect of Melatonin and Vitamin C on COVID-19. clinicaltrials.gov; 2021. Report No.: NCT04530539.
67. Adrian Palacios-Chavarria. Open Clinical Trial of the Use of Antioxidants and Pentoxifylline as Adjuvant Therapy to Standard Therapy in Patients With and Without Septic Shock Secondary to COVID-19 Severe Pneumonia. clinicaltrials.gov; 2020. Report No.: NCT04570254.
68. Piovezan RD. Adjuvant Therapeutic Effects of Melatonin Agonist on Hospitalized Patients With Confirmed or Suspected COVID-19. clinicaltrials.gov; 2020. Report No.: NCT04470297.
69. Ziaei A, Davoodian P, Dadvand H, Safa O, Hassanipour S, Omid M, et al. Evaluation of the efficacy and safety of Melatonin in moderately ill patients with COVID-

19: A structured summary of a study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. 2020;21(1):882.

70. Baghdasht MSB. Evaluation of Therapeutic Effects of Melatonin by Inhibition of NLRP3 Inflammasome in COVID19 Patients. clinicaltrials.gov; 2020. Report No.: NCT04409522.