



FACULTAD DE
MEDICINA
UNIVERSIDAD DE
CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

**PERSPECTIVAS TERAPÉUTICAS DE LA
MELATONINA EN EL TRATAMIENTO
DEL CÁNCER DE MAMA**

**Future clinical uses of melatonin in
breast cancer therapy**

Autor: D. Andrea Valdor Cerro

Director: Carolina Alonso González

Santander, Junio 2017

ÍNDICE

RESUMEN	i
ABSTRACT	i
OBJETIVOS Y METODOLOGÍA	3
1. CÁNCER DE MAMA	5
1.1. Epidemiología y Etiología	5
1.2. Clasificación inmunohistoquímica	7
1.3. Abordaje clínico y terapéutico	8
1.3.1. Quimioterapia	8
1.3.2. Radioterapia	8
1.3.3. Hormonoterapia	8
2. LA MELATONINA	11
2.1. Síntesis, secreción, transporte y metabolismo.....	11
2.2. Mecanismos generales de acción	13
2.3. Funciones generales de la melatonina.....	14
3. ACCIONES ANTITUMORALES DE LA MELATONINA	17
3.1. Melatonina y cáncer de mama	17
3.2. Acciones antiestrogénicas: Propiedades SERM y SEEM	20
3.2.1. Propiedades SERM de la melatonina	20
3.2.2. Propiedades SEEM de la melatonina	22
3.3. Regulación del ciclo celular, diferenciación y apoptosis.....	26
3.4. Inhibición de la actividad telomerasa.....	27
3.5. Inhibición de metástasis tumoral	27
3.6. Acciones antioxidantes	27
3.7. Acciones antiangiogénicas	28
3.8. Acciones inmunomoduladoras.....	29
3.9. Acciones epigenéticas.....	30
3.10. Acciones preventivas en la cronodisrupción	30
3.11. Acciones en el transporte y metabolismo de los ácidos grasos.....	32

4. PERSPECTIVAS TERAPÉUTICAS DEL USO DE LA MELATONINA EN EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER DE MAMA.....	33
4.1. La melatonina en ensayos clínicos en pacientes con cáncer.....	33
4.2. Melatonina como agente sensibilizador a la radioterapia	34
4.3. Melatonina como agente sensibilizador a la quimioterapia.....	35
4.4. Melatonina como agente sensibilizador a nuevas terapias antiangiogénicas	36
4.5. Melatonina como prevención frente al cáncer de mama.....	36
4.5.1. Terapia adyuvante en hormonoterapia.....	36
4.5.2. Prevención del riesgo de cáncer de mama asociado a la obesidad	37
4.5.3. Prevención del riesgo de cáncer de mama asociado a la cronodisrupción.....	37
4.6. Uso de melatonina para combatir los efectos secundarios asociados al tratamiento del cáncer de mama.....	37
4.6.1. Dermatitis.....	37
4.6.2. Depresión.....	38
4.6.3. Trastornos del sueño	38
4.6.4. Alteraciones de la función cognitiva	39
4.7. Conclusiones y futuras consideraciones.....	39
4.7.1. En la actualidad, ¿para que se usa?.....	40
5. BIBLIOGRAFÍA.....	43

RESUMEN

El cáncer de mama ocupa el primer lugar en incidencia y mortalidad por cáncer en mujeres. La melatonina es el principal producto de la glándula pineal, y se han demostrado ampliamente sus acciones oncostáticas sobre la génesis y el desarrollo de tumores mamarios hormono-dependientes tanto en modelos *in vitro* como en animales. Asimismo, en los últimos años se han llevado a cabo varios ensayos clínicos en los cuales la administración de melatonina a pacientes con tumores sólidos (mama entre ellos) conjuntamente con distintos tratamientos de quimioterapia y radioterapia, tuvo efectos positivos sobre la remisión tumoral, la supervivencia a un año y contribuyó a mitigar los efectos secundarios adversos.

En este trabajo se pretende revisar en primer lugar las acciones oncostáticas de esta hormona, así como su papel en la prevención del cáncer de mama y su posible aplicación clínica oncológica como terapia coadyuvante al tratamiento con quimioterapia y/o radioterapia. Finalmente, se discute cuáles son las perspectivas actuales y futuras de esta indolamina, ya que, a pesar de los prometedores resultados, su uso actual en el abordaje clínico del cáncer de mama no es frecuente.

Palabras clave: Melatonina, cáncer de mama, quimioterapia, radioterapia, ensayos clínicos.

ABSTRACT

Melatonin, the main secretory product of the pineal gland, is an oncostatic agent that reduces the growth and development of various types of tumors, particularly those whose growth is dependent on estrogen (breast cancer) both in *in vitro* and *in vivo* experimental conditions. The inhibitory action of melatonin on breast cancer cells is based on its interaction with the synthesis of estrogens and the estrogen-signaling pathway. In addition, several clinical trials point to melatonin as a promising adjuvant molecule to be considered for cancer treatment in conjunction with different oncological strategies suggesting that melatonin can enhance the beneficial and protect against the deleterious effects of these treatments.

This work review the latest discoveries about melatonin oncostatic actions and also its beneficial effects when concomitantly administered with either radiotherapy or chemotherapy in breast cancer. Clinical experiments showed substantial improvements in tumor remission, survival and side effects of chemotherapy. Despite the promising results of these experimental investigations, the use of melatonin in breast cancer treatment in humans is still uncommon.

Key Words: Melatonin, breast cancer, chemotherapy, radiotherapy, clinical trials.

OBJETIVOS Y METODOLOGÍA

El presente trabajo es una revisión exhaustiva de los datos recogidos en la literatura sobre las acciones antitumorales de la melatonina en el cáncer de mama, así como su posible uso clínico concomitante a quimioterapia y hormonoterapia. Para ello se ha realizado una **búsqueda bibliográfica** en la literatura electrónica utilizando como base de datos de referencia el **PubMed**. Dada la amplia naturaleza de esta revisión, la búsqueda se realizó utilizando los siguientes descriptores: *Melatonina (Melatonin)*; *Cáncer de mama (Breast cancer)*; *Quimioterapia (Chemotherapy)*; *Radioterapia (Radiotherapy)*; *Ensayos clínicos (Clinical trials)*. Los artículos que fueron incluidos se considera que ofrecen información relevante relacionada con las acciones antitumorales de la melatonina y/o sus perspectivas clínicas como tratamiento en el cáncer de mama. Las referencias bibliográficas de los artículos seleccionados, incluidos los estudios, investigaciones originales y otros artículos de interés se han analizado en busca de artículos adicionales de apoyo para la revisión.

El **objetivo principal de este trabajo** es poder generar mejoras en el abordaje terapéutico del cáncer de mama mediante el conocimiento de las acciones oncostáticas de la melatonina, principalmente sus acciones antiestrogénicas, antiaromatasa y antioxidantes. Dado que esta indolamina es una molécula natural sin efectos adversos, podría administrarse de manera conjunta con los fármacos empleados habitualmente en quimioterapia u hormonoterapia, mejorando su efectividad y reduciendo su toxicidad.

Los **objetivos concretos** serían:

- Realizar una breve introducción a la etiología del cáncer de mama, así como las principales estrategias terapéuticas existentes en la actualidad.
- A continuación se revisará la fisiología de la glándula pineal y su principal producto de secreción, la melatonina.
- En tercer lugar, se pretende hacer una revisión exhaustiva de todas las propiedades antitumorales de la melatonina, así como sus principales mecanismos de acción.
- Finalmente, se revisarán los resultados obtenidos tras la administración concomitante de melatonina en ensayos clínicos en pacientes con cáncer, así como las posibles aplicaciones clínicas futuras de esta indolamina en el abordaje terapéutico del cáncer de mama.

1. CÁNCER DE MAMA

1.1. Epidemiología y Etiología

El cáncer de mama es la proliferación maligna y descontrolada de las células epiteliales mamarias que han adquirido propiedades que les permiten evadir la muerte celular, invadir tejidos circundantes y, en algunos casos, metastatizar a otros lugares a través del sistema linfático o del torrente sanguíneo. El crecimiento celular y la integridad genómica están estrechamente regulados en las células normales por varios tipos de genes. Sin embargo, en las células tumorales a menudo se pierde esta regulación debido a las anomalías (hereditarias o adquiridas) en dichos genes, como por ejemplo en los genes supresores de tumores y oncogenes.

En la actualidad es el segundo tipo de cáncer más frecuente a nivel mundial, siendo el primero en el caso de las mujeres, con 1.7 millones de casos diagnosticados en 2012. Los estudios epidemiológicos muestran variaciones geográficas significativas en la incidencia de este tipo de tumor, siendo más elevada en los países desarrollados (74% frente a 31% en países menos desarrollados). En relación a la tasa de mortalidad, el cáncer de mama supone la 5ª causa de muerte por cáncer a nivel global, siendo la primera causa de muerte en mujeres en países menos desarrollados (14,3%) y la segunda en mujeres de países desarrollados (15,4%), sólo por detrás del cáncer de pulmón [1]. La menor tasa de supervivencia observada en los países poco desarrollados podría explicarse principalmente por la falta de programas de detección precoz, que hace que un alto porcentaje de mujeres acudan al médico con la enfermedad ya muy avanzada, pero también por la falta de servicios adecuados de diagnóstico y tratamiento. En España, se diagnostican alrededor de 25.000 nuevos tumores mamarios al año, según los datos recogidos en el estudio GLOBOCAN [2].

En relación a su etiología, se han descrito numerosos parámetros que de alguna forma están relacionados con la aparición y/o desarrollo del cáncer de mama. A continuación se hará una breve reseña a algunos de ellos:

- **Edad.** La mayoría de los casos se diagnostican entre los 35 y los 80 años, con un máximo entre los 45 y los 65. No obstante, estas diferencias varían en función de factores como el país de residencia. Así por ejemplo en un reciente estudio epidemiológico llevado a cabo entre mujeres de diferentes países reveló que la edad media de diagnóstico se situaba en torno a los 40-50 años en países de Asia o África central, y en cambio en países occidentales la media se situó entre los 60-70 años [3].
- **Factores genéticos.** Un 5-10% de los casos diagnosticados tienen origen hereditario, y de ellos más del 60% están relacionados con mutaciones en los genes *BRCA1/2*. Es interesante señalar que las mujeres que poseen una mutación de estos genes tienen hasta un 80% más de posibilidad de desarrollar cáncer que las que no sufren la mutación génica [4]. Otros genes cuyas mutaciones están relacionadas con un elevado riesgo de desarrollar cáncer de mama serían por ejemplo *TP53*, *PTEN*, *STK11*, *CDH1*, *ATM* o *CHEK2* [5].

- **Raza.** Las mujeres de raza blanca tienen mayor riesgo de desarrollar este tipo de tumor que las africanas o asiáticas [6].
- **Estilo de vida.** Las dietas ricas en ácidos grasos, el consumo elevado de alcohol y el tabaquismo son factores que aumentan el riesgo.
- **Cronodisrupción.** Desde que en el año 2007 la disrupción circadiana fue considerada como un posible carcinógeno por la International Agency for Research on Cancer (IARC), han surgido numerosos estudios intentando relacionar la exposición a la luz nocturna (LAN) con un mayor riesgo de desarrollar cáncer mamario. Más concretamente, el nexo de unión sería que la exposición LAN disminuye la cantidad de melatonina, y esto provocaría una desregulación del crecimiento de las células epiteliales mamarias aumentando así el riesgo de cáncer. [7-9].
- **Estatus reproductor.** La menarquia temprana y la menopausia tardía aumentan el tiempo de exposición a los estrógenos, y el consiguiente riesgo de cáncer mamario. El embarazo a edades avanzadas o el número de hijos son considerados también factores de riesgo.
- **Terapia hormonal sustitutiva.** Hasta el momento numerosos estudios epidemiológicos han sido llevados a cabo para evaluar el riesgo de desarrollar cáncer de mama asociado al uso de terapias hormonales durante la menopausia. En una revisión reciente se concluye que el uso de terapia hormonal combinada (estrógenos + progesterona) aumenta significativamente dicho riesgo. Sin embargo con respecto a la terapia basada únicamente en el uso de estrógenos se ha comprobado una reducción en la incidencia de esta enfermedad, al menos cuando la terapia se inicia al comienzo de la menopausia [10]. Se acepta en la actualidad que, durante la vida postmenopáusica, pueden administrarse estrógenos a una dosis relativamente baja ya sea de manera cíclica o en combinación con progestágenos. Aunque los estrógenos pueden incrementar ligeramente la incidencia de cáncer mamario, se justifica su empleo sensato porque disminuyen la mortalidad asociada a otras patologías.
- **Factores ambientales.** En las últimas décadas, numerosos estudios han postulado la hipótesis de la existencia de una relación directa entre el incremento de los desórdenes de carácter reproductivo, incluido el cáncer hormono-dependiente, con una mayor exposición a factores medioambientales. La relación de los factores susceptibles de actuar como carcinógenos incluye entre otros la exposición a disruptores endocrinos capaces de mimetizar la acción de las hormonas endógenas. En muchos casos, el efecto de estos factores es demasiado bajo para que puedan ser considerados como carcinogénicos por sí mismos. Sin embargo, se ha demostrado que sus efectos son aditivos y, a largo plazo, pueden causar alteraciones hormonales [11].

En definitiva, cuando se analizan en profundidad los factores de riesgo hay un dato en común a prácticamente todos, la mayor exposición a estrógenos, bien sean naturales o de síntesis. En este sentido, fue Beatson quien demostró por primera vez en el año 1896 que la ovariectomía inhibía el crecimiento de tumores mamarios metastásicos [12]. En la última década, se han llevado a cabo varios estudios en mujeres post-menopáusicas que relacionan de manera significativa el aumento de los niveles de estradiol en sangre con una mayor incidencia de tumores mamarios. En este sentido, es importante considerar que dos tercios de los tumores mamarios se detectan en esta etapa, donde los niveles de estrógenos circulantes son mínimos, si bien la concentración de estradiol en el tumor es significativamente más elevada que en el plasma o en el tejido mamario normal. En este caso, la síntesis de estrógenos se realiza a nivel de la propia glándula mamaria, a partir de los andrógenos, por acción de las enzimas de la familia de la aromatasa.

1.2. Clasificación inmunohistoquímica

Como ya se ha comentado en este trabajo, un porcentaje pequeño de tumores mamarios son hereditarios, mientras que los cánceres espontáneos se asocian a mutaciones adquiridas en genes clave a través de una serie de factores de riesgo, incluyendo la exposición a agentes genotóxicos y mutagénicos. La prevalencia de este tipo de tumores aumenta tras la menopausia y a diferencia de los que tienen una etiología hereditaria suelen tener un mejor pronóstico. Asimismo, durante el análisis del tumor biopsiado se utilizan básicamente 4 marcadores: receptores de estrógenos (ER) y receptores de progesterona (PgR), cuyo grado de expresión conferirá una mejor respuesta al tratamiento hormonal; el receptor del factor de crecimiento epidérmico (HER2) cuya presencia confiere al tumor una mayor agresividad; y un marcador de proliferación (Ki67). En función de las características inmunohistoquímicas se diferencian varios subtipos de tumores mamarios, y su clasificación será clave a la hora de determinar el abordaje terapéutico de elección (**figura 1**).

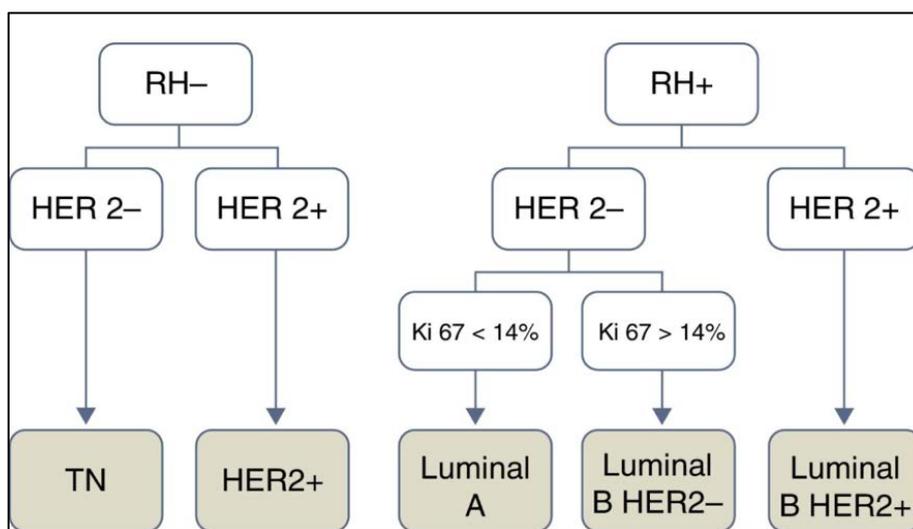


Figura 1: Clasificación inmunohistoquímica del cáncer de mama. En función de las características inmunohistoquímicas se distinguen los siguientes subtipos: luminal, que expresa receptores hormonales (RH+) y a su vez se subdivide en función de la expresión de HER2 y del índice de proliferación celular (Ki-67); HER2+ y triple negativo (TN), que no expresa ni receptores hormonales (RH-) ni HER2 (HER 2-). [13].

1.3. Abordaje clínico y terapéutico

En cuanto a las opciones terapéuticas en el abordaje del cáncer de mama, al igual que en el caso de muchos tumores sólidos, las tres herramientas principales son la **cirugía, la radioterapia y la quimioterapia**. La cirugía siempre suele ser la primera modalidad utilizada y tras la resección quirúrgica se instauran las terapias adyuvantes con quimioterapia y/o radioterapia. En aquellos tumores localizados que no sobrepasen los 3-4 cm se intenta cada vez más la opción de cirugía conservadora, sometiendo a la paciente a un tratamiento de quimioterapia neoadyuvante para conseguir la regresión (total o parcial) del tumor antes de la cirugía.

1.3.1. Quimioterapia

Existen muchas clases de fármacos quimioterapéuticos, y por tanto no es posible revisar todos ellos aquí en detalle. Brevemente, de entre las terapias que dañan el ADN destacan los agentes inhibidores de topoisomerasas (doxorubicina, daunorubicina). Asimismo, debido a la importancia de los microtúbulos durante la división celular, su uso como blanco farmacológico permite utilizar compuestos que actúan principalmente sobre las células que presentan una alta tasa de proliferación. Estos compuestos se conocen colectivamente como agentes que interfieren con los microtúbulos (MIAs) y están considerados como los fármacos más efectivos (paclitaxel, docetaxel, vincristina).

1.3.2. Radioterapia

Es una técnica utilizada tanto como medio principal de control local para reducir la carga tumoral antes de la cirugía como de complemento/adyuvante de la misma (comentado anteriormente). La radioterapia, al igual que muchos agentes quimioterapéuticos, daña directamente el ADN de las células tumorales. En este caso, el daño en el ADN es generado por radiación ionizante (IR). Se puede aplicar externamente (radioterapia), internamente a través de cápsulas (braquiterapia) o internamente por vía oral/intravenosa (sistémica).

1.3.3. Hormonoterapia

Es importante señalar que aproximadamente el 70% de los tumores mamarios son hormono-dependientes (al menos en su etapa inicial), en los que el receptor de estrógenos (ER α) está sobreexpresado en mayor o menor grado. Este dato es de suma importancia a la hora de establecer la caracterización del tumor así como la estrategia terapéutica, ya que además de un tratamiento general con quimioterapia y/o radioterapia se puede incluir la hormonoterapia, basada en fármacos con acción antiestrogénica.

Más concretamente, las estrategias farmacológicas se basan en la utilización de:

- a) **Drogas capaces de modular la actividad del receptor de estrógenos (*Selective Estrogen Receptor Modulators, SERM*)**. Entre estos compuestos están el Tamoxifeno y sus derivados, que se comportan como agonistas parciales o antagonistas de los estrógenos. Otro de los SERM es el Fulvestrant conocido también como **SERD (*Selective Estrogen Receptor Destroyer*)**, que bloquea totalmente la transactivación del ER, altera su dimerización, e induce la degradación de los ER [14].
- b) **Drogas capaces de inhibir los enzimas implicados en la conversión de andrógenos a estrógenos (*Selective Estrogen Enzyme Modulators, SEEM*)** que incluyen tanto compuestos de origen esteroideo (Formestrano o Exemestrano) como no esteroideo (Letrozol) [15].

Los SERM, al bloquear la respuesta a los estrógenos a nivel del ER, previenen los efectos carcinogénicos de estos esteroides, derivados de su capacidad para aumentar la proliferación celular a través de la activación del ER α . Los SEEM, al disminuir la propia síntesis de estrógenos, no solo previenen los efectos derivados de su unión a los ER, sino también las posibles acciones mutagénicas directas de los esteroides o de sus metabolitos.

Es importante señalar que si bien este tipo de tratamiento combinado con quimioterapia mejora notablemente el pronóstico de las pacientes, no es útil en los casos en los que las células tumorales carecen de receptores hormonales (ER-, PgR-). En esos casos el abordaje terapéutico dependerá de si la proteína HER2 está sobreexpresada. Las células que presentan altos niveles de esta proteína en su membrana plasmática responden de manera muy intensa a niveles normales de factores de crecimiento, por lo que se multiplican velozmente llegando a originar tumores. Para tratar a los pacientes con este tipo de cáncer de mama se utilizan compuestos de quimioterapia dirigidos contra la proteína HER2 como el **anticuerpo monoclonal Trastuzumab** [16]. Por último, los casos de triple negativos, sin receptores para estrógenos y progesterona y sin sobreexpresión de HER2, son los que tienen un peor pronóstico y su tratamiento se basa mayoritariamente en fármacos de quimioterapia que sean capaces de detener la división celular interfiriendo con la dinámica de los microtúbulos.

2. LA MELATONINA

2.1. Síntesis, secreción, transporte y metabolismo

La melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) es una hormona indólica que se produce mayoritariamente en la glándula pineal y que se encuentra presente a lo largo de prácticamente toda la escala evolutiva, desde las bacterias a los vertebrados [17]. Se han descrito otros lugares de síntesis como retina, tracto gastrointestinal, piel o médula ósea, pero la contribución de estos sitios extrapineales a los niveles plasmáticos de melatonina es poco significativa. La principal función biológica de la glándula pineal fue descubierta en la década de los 60, cuando Aaron Lerner, basándose en estudios realizados en 1917 por McCord y Allen, realizó un trabajo encaminado al aislamiento del factor pineal responsable del aclaramiento de la piel de anfibios, a la que se denominó melatonina [18].

La síntesis de melatonina en la glándula pineal está controlada por el núcleo supraquiasmático (NSQ) que actúa como marcapasos endógeno y que se encuentra sincronizado con la luz medioambiental a través de la retina. Más concretamente, los fotorreceptores (melanopsinas y criptocromos) que detectan los cambios de luz se localizan en las dendritas de las células ganglionares de la retina, cuyos axones se proyectan directamente hacia el NSQ, constituyendo lo que se conoce como tracto retinohipotalámico (RHT) [19]. Durante la noche, el NSQ envía señales neurales a través de una vía multisináptica simpática, la vía retino-hipotalámica-pineal. Esta vía consta de los núcleos paraventriculares hipotalámicos (PVN), las células intermediolaterales (IML) y el ganglio cervical superior (SCG), que se proyecta sobre la glándula pineal e induce la liberación de noradrenalina (NA). La unión de esta catecolamina a sus receptores específicos situados en la membrana del pinealocito promueve finalmente la activación de la síntesis de melatonina (**figura 2.A**).

Con respecto al proceso de síntesis, comienza con la captación del aminoácido esencial triptófano procedente del torrente circulatorio, que gracias a las reacciones de hidroxilación y descarboxilación llevadas a cabo por las enzimas *Triptófano Hidroxilasa* y la *L-amino Descarboxilasa* será transformado en serotonina. Posteriormente esta serotonina sufre un proceso de metilación por parte de la *Aril-alquilamina-N-acetiltransferasa* transformándose en N-acetilserotonina. Finalmente la enzima *Hidroxiindol-O-Metil-Transferasa (HIOMT)* será la encargada de transformar este metabolito en melatonina (**figura 2.B**).

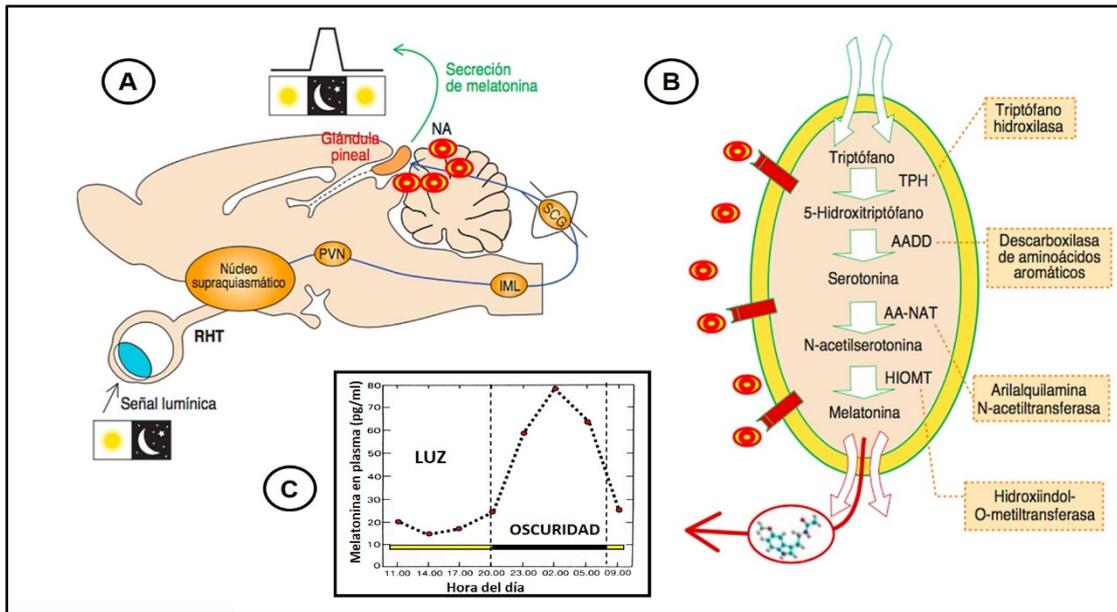


Figura 2. Principales características de la síntesis de melatonina. **A)** Inervación simpática de la glándula pineal humana. La actividad de la glándula pineal depende de las condiciones lumínicas, siendo la retina el principal órgano fotorreceptor. A través del tracto retinohipotalámico (RHT) se emite la información del ambiente lumínico hasta la glándula pineal mediante un circuito neuronal en el que participan el nervio óptico, el núcleo supraquiasmático (SCN) y el ganglio cervical superior (SCG); **B)** Formación de melatonina a partir del triptófano en los pinealocitos; **C)** Cambios en la concentración plasmática de melatonina asociados al ciclo luz/oscuridad [19].

Tal y como puede observarse en la **figura 2.C** la característica más llamativa de la secreción de melatonina es su patrón rítmico ligado a los ciclos luz/oscuridad. Así, en condiciones normales (alternancia luz/oscuridad, con periodos de 24 horas), las concentraciones plasmáticas de melatonina son bajas durante el día (en presencia de luz) y elevadas durante la noche (en oscuridad) [20]. Se trata de una auténtica ritmicidad circadiana, ya que si privamos a los sujetos de las señales medioambientales que le indican la alternancia día/noche (por ejemplo, situándolos en oscuridad continua), el ritmo de secreción de melatonina persiste, si bien con una periodicidad ligeramente distinta a la de 24 horas.

Una vez sintetizada, la melatonina no se almacena en la glándula, sino que se secreta directamente a la sangre, donde circula unida a albúmina (70%) y en forma libre (30%). El hígado es responsable del aclaramiento de más del 90% de la melatonina circulante, que es hidroxilada (6-OH-melatonina) y posteriormente eliminada por la orina, conjugada con sulfúrico y en menor medida con glucurónico. En los humanos, el principal metabolito urinario es la 6-sulfatoximelatonina (aMT6s). El sistema renal también participa en el catabolismo de la melatonina, así como el cerebro, donde es oxidada a N-acetil-N-formil-5-metoxi-quinurenamina (AFMK) y N-acetil-5-metoxi-quinurenamina (AMK). Sólo una pequeña fracción (0,5%) de la melatonina circulante es excretada en forma libre.

Por último es importante destacar que la producción de melatonina se ve influenciada no sólo por el ritmo circadiano sino también por otra serie de factores, tales como la edad. En este sentido, se sabe que su síntesis se inicia en el feto a partir de la semana 26 de gestación, alcanzándose niveles máximos entre los 1 y 3 años. Estos niveles caen bruscamente en la pubertad para ir descendiendo progresivamente a partir de la misma. Esta disminución ha hecho pensar en una posible relación de esta hormona con el proceso de envejecimiento, debido en gran parte a la acumulación de sustancias antioxidantes. Asimismo se han objetivado también otros cambios asociados por ejemplo a la estación del año, el ciclo menstrual o en situaciones de estrés [21].

2.2. Mecanismos generales de acción

La diversidad de acciones de la melatonina ha tratado de ser explicada a través de distintos mecanismos (**figura 3**):

a) Unión a receptores de membrana. En la actualidad, y siguiendo los criterios de nomenclatura de la *Internacional Union of Pharmacology* (IUPHAR), están considerados tres tipos de receptores en mamíferos: MT₁ (que incluye a los anteriormente denominados Mel_{1a}), MT₂ (que se corresponden con los inicialmente llamados Mel_{1b}), y MT₃, (los anteriormente conocidos como ML₂). Los receptores MT₁ y MT₂ son miembros de la gran familia de receptores con siete dominios transmembrana, que incluye los receptores de serotonina y β -adrenérgicos. Estos receptores están acoplados a diferentes proteínas G inhibitoras (G_i) que median la inhibición de la adenilato ciclasa y por tanto modulan los niveles de AMPc. Además, los MT₁ controlan la movilización del Ca²⁺ a través de proteínas G_{q11}, mientras que los MT₂ inhiben la guanilato ciclasa. Los receptores MT₃, menos conocidos, parecen ser una forma de quinona reductasa [9, 22].

Los receptores MT₁ y MT₂ han sido localizados tanto en estructuras del SNC como extraneurales. Entre las primeras, mencionaremos el NSQ, hipotálamo medio basal, cerebelo, cortex, tálamo y retina. Fuera del SNC, han sido descritos receptores para melatonina en linfocitos, células epiteliales prostáticas, células granulosas de folículos preovulatorios, espermatozoides, mucosa del colon, plaquetas y tejido mamario.

b) Unión a receptores nucleares. Algunos de los efectos de la melatonina no son explicables por su unión a receptores de membrana. Dada la naturaleza lipofílica de esta hormona y su pequeño tamaño, que le permite atravesar fácilmente la membrana plasmática y alcanzar el núcleo celular, se ha descrito también que la melatonina puede actuar a través de alguno de los receptores nucleares de la superfamilia del ácido retinoico (RZR/ROR), factores de transcripción para los que se desconocen ligandos específicos (receptores huérfanos), si bien esta hipótesis todavía no está suficientemente demostrada [9, 23].

c) Interacción con la calmodulina (CaM). La melatonina es capaz de unirse al complejo Ca²⁺-CaM e inactivarlo, lo que provocaría la inhibición de diferentes procesos celulares regulados por esta proteína. Este sería un mecanismo de acción de la melatonina independiente de su unión a receptores [24].

d) Neutralización de radicales libres. La melatonina es un potente neutralizador de radicales libres debido a su capacidad para transferir electrones. A esta función habría que añadir su capacidad de estimular la expresión de enzimas antioxidantes, lo que en conjunto sugiere que la hormona pineal podría tener un papel protector en procesos neurodegenerativos e interferir en algunos aspectos del envejecimiento [25, 26].

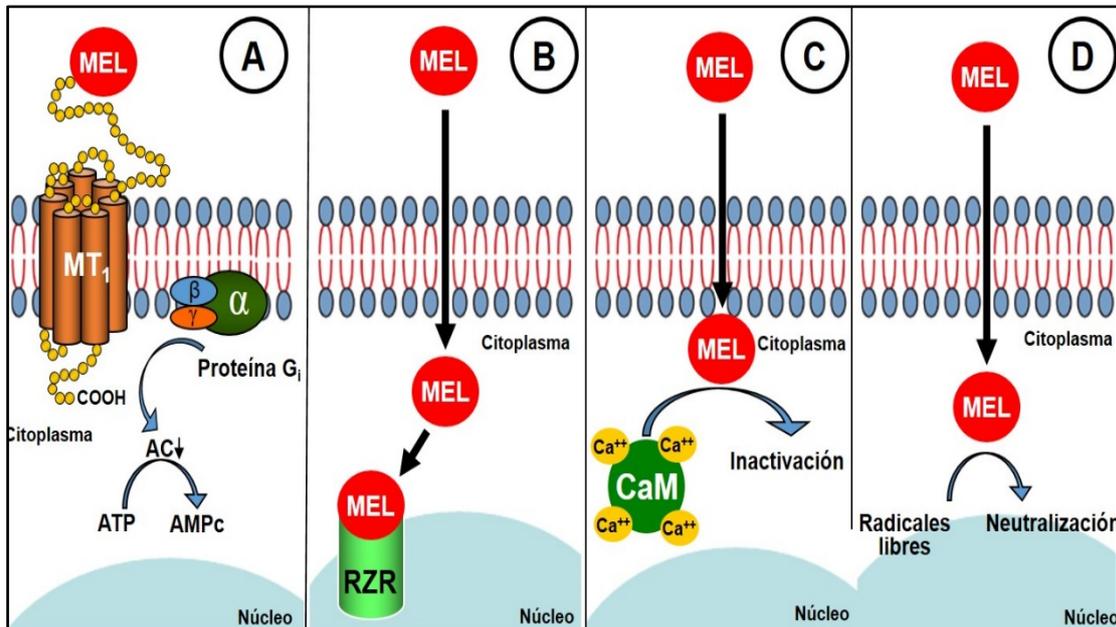


Figura 3. Mecanismos generales de acción de la melatonina. A) Unión a receptores de membrana MT₁/MT₂; B) Unión a receptores nucleares RZR/ROR; C) Unión a proteínas citoplasmáticas, como la calmodulina (CaM); D) Neutralizador de radicales libres.

2.3. Funciones generales de la melatonina

A pesar de que la síntesis y secreción de la melatonina son bien conocidos, así como sus receptores y su mecanismo de acción, el papel fisiológico de la hormona pineal en humanos aún no ha sido totalmente esclarecido. La melatonina funciona a modo de señal química que mide la duración de la noche y también el paso de las estaciones, lo que permite pensar que su función está principalmente relacionada con la regulación de los ritmos biológicos. Sin embargo, hay otras acciones de esta indolamina que, al menos directamente, no parecen estar relacionadas con el sistema circadiano y se asemejan más a las de cualquier hormona. Entre ellas podríamos citar:

- 1. Sincronizador de ritmos circadianos.** En líneas generales se ha observado que la administración de melatonina mejora la predisposición al sueño y su consolidación. Asimismo también se ha descrito su capacidad para resincronizar el ciclo sueño-vigilia en pacientes con síndrome de fase de sueño retrasada y en ciegos. También disminuye el insomnio asociado a ciertas patologías.

Aunque el principal mecanismo de acción por el cual la melatonina ejerce este efecto sobre el sueño parece ser su capacidad cronobiótica sobre el núcleo supraquiasmático, también se ha observado un efecto sobre los centros termorreguladores (induciendo una caída de la temperatura corporal) y cardiovasculares.

2. **Acciones antioxidantes**, desarrolladas en el punto 3.6.
3. **Acciones inmunomoduladoras**, desarrolladas en el punto 3.8.
4. **Acciones antineoplásicas**. Dependientes de su capacidad para interactuar con el eje neuroendocrino-reproductor. En este trabajo nos hemos centrado en estas acciones que desarrollaremos con mayor detalle a continuación, haciendo especial énfasis en la naturaleza antiestrogénica de esta hormona.

3. ACCIONES ANTITUMORALES DE LA MELATONINA

3.1. Melatonina y cáncer de mama

En el año 1978 Cohen y colaboradores [28] propusieron una hipótesis que relacionaba los déficits en la producción de melatonina con un aumento en la actividad del eje endocrino gonadal, dando lugar a un aumento de gonadotropinas hipofisarias (LH y FSH) y por tanto a un estado de hiperestrogenismo relativo. Dado que el estradiol es uno de los más potentes inductores del crecimiento mamario, este déficit de melatonina se relacionaba con un aumento de la probabilidad de desarrollar tumores mamarios (**figura 4**).

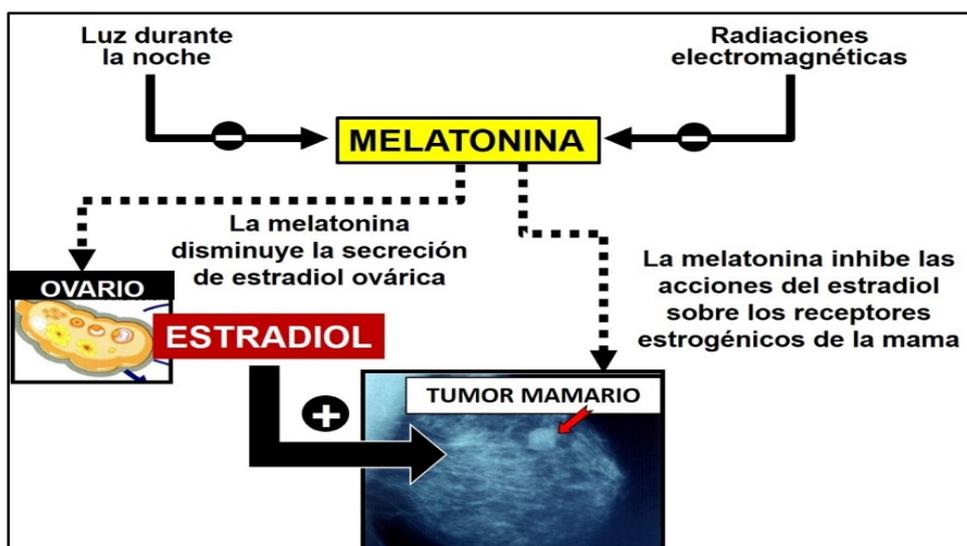


Figura 4. Influencia de la melatonina sobre la carcinogénesis mamaria. La disminución de la síntesis de melatonina provoca una desregulación del crecimiento de las células mamarias y el riesgo de cáncer de mama aumenta. No sólo se considera la posible inhibición por la melatonina de la síntesis de esteroides gonadales sino sus acciones nivel de los receptores estrogénicos del tejido mamario.

Posteriormente Tamarkin y colaboradores (1982) describieron la relación entre la concentración plasmática de melatonina y el cáncer de mama al observar que mujeres con adenocarcinomas mamarios en los que estaban presentes los receptores estrogénicos tenían concentraciones plasmáticas nocturnas de melatonina significativamente más bajas que las mujeres sanas o aquellas con tumores que eran receptor estrogénico negativo (**figura 5**) [29].

Desde entonces, han sido numerosos los datos que indirectamente han apoyado el posible papel de la melatonina en el cáncer mamario. Entre ellos, cabe destacar la baja incidencia de este tipo de tumores en mujeres ciegas [30]. Además, se ha observado que el riesgo de cáncer mamario disminuye con el grado de déficit visual de las mujeres estudiadas, lo que sugiere una relación dosis-respuesta entre la luz visible y dicho riesgo [31].

De esta manera, la supresión parcial o total del estímulo luminoso podría inducir un aumento en los niveles de melatonina circulante, que podría explicar la baja incidencia de los tumores.

Además de todas estas evidencias indirectas, a lo largo de estos años han ido surgiendo numerosos trabajos experimentales que apoyan esta hipótesis. La conclusión común ha sido que la melatonina a dosis fisiológicas (1 nM) inhibe la proliferación de diversos tipos de células tumorales, induce la apoptosis y reduce la invasividad y la respuesta quimiotáctica [9, 32].

En estudios *in vivo* en modelos tumorales mamarios inducidos por agentes carcinogénicos (DMBA) se comprobó como la supresión de la función pineal (pinealectomía) tenía efectos negativos sobre la incidencia de la aparición de tumores mamarios, así como del número y tamaño de los mismos. En cambio en aquellos animales sometidos a tratamiento con melatonina exógena se observó un aumento de la latencia tumoral, y una menor incidencia del número y tamaño de los tumores. Asimismo en estos animales hubo una disminución de estradiol sérico y de las concentraciones de gonadotropinas (FSH y LH) **(figura 6)**.

En definitiva, los mecanismos a través de los cuales la melatonina ejerce sus acciones antiestrogénicas parecen depender de la unión de la misma a sus receptores específicos de membrana (MT₁) y pueden ser básicamente de dos tipos:

1. **Interacción con las vías de señalización de estrógenos, comportándose como un modulador selectivo del receptor de estrógenos (propiedades SERM).** En este caso el nexo de unión parece ser el AMPc. El AMPc potencia la transcripción del receptor de estrógenos (ER) y por su parte la melatonina mediante su unión a su receptor MT₁ inhibe la adenilato ciclasa y disminuye la concentración de AMPc, pudiendo así contrarrestar el efecto de los estrógenos [14].
2. **Inhibición de la síntesis de hormonas estrogénicas (propiedades SEEM).** Dentro de este segundo grupo se incluiría tanto las acciones sobre el eje hipotálamo-hipófisis (disminución de GnRH y gonadotropinas), como su capacidad para modular la actividad de las enzimas implicadas en la síntesis de estrógenos, tanto gonadal como extragonadal [14].

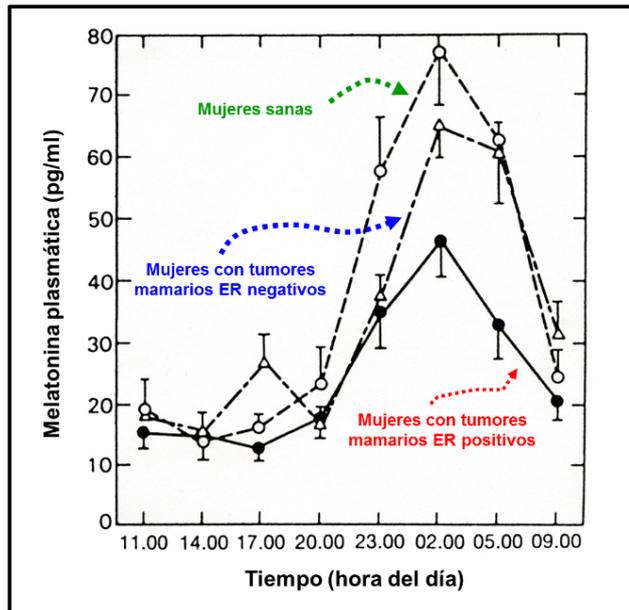


Figura 5. Ritmo diario de la concentración plasmática de melatonina en mujeres sanas y con tumores mamarios receptor estrogénico (ER) positivos o negativos. Adaptado de [29].

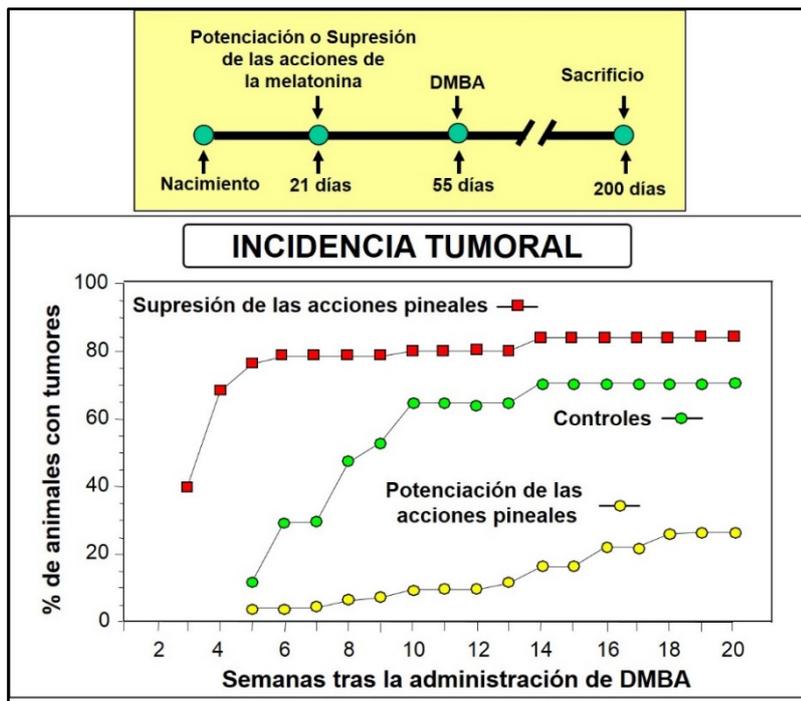


Figura 6. Efectos de la supresión y/o potenciación de la función pineal sobre la incidencia de tumores mamarios inducidos por DMBA en ratas [33].

Por último es importante señalar que la melatonina no ejerce sus acciones antitumorales exclusivamente a partir de su capacidad antiestrogénica. Se han descrito otros mecanismos antitumorales de esta hormona que sirven, además, para explicar sus acciones sobre tumores que no son hormono-dependientes. Todos ellos serán revisados a continuación (**figura 7**).

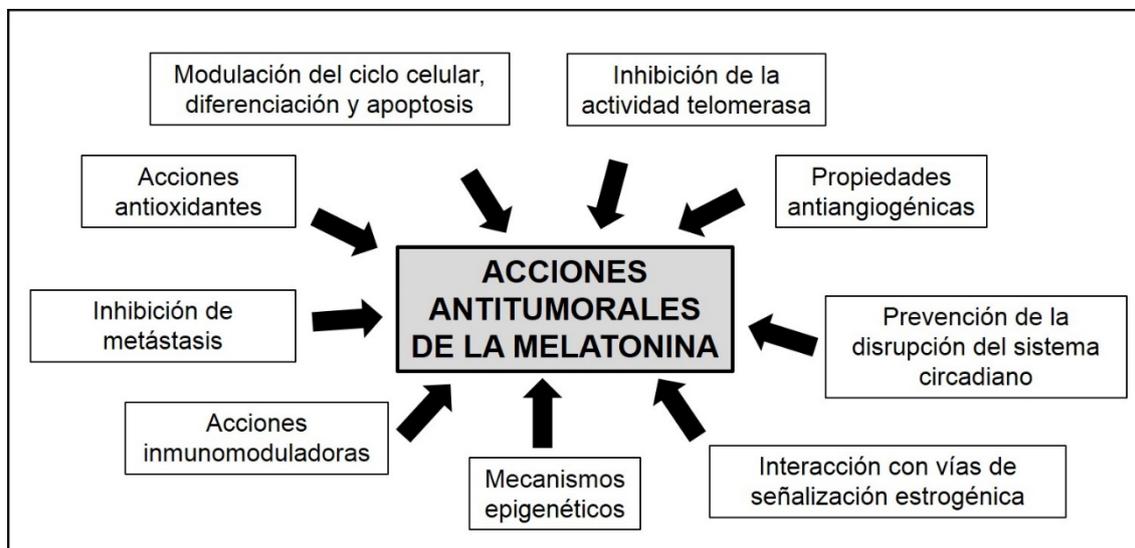


Figura 7. Principales mecanismos implicados en las propiedades antitumorales de la melatonina. Modificado de [34, 35].

3.2. Acciones antiestrogénicas: Propiedades SERM y SEEM

3.2.1. Propiedades SERM de la melatonina

Los receptores estrogénicos (ER) son factores de transcripción pertenecientes a la familia de receptores nucleares. En ausencia de ligando, permanecen inactivos. La unión del receptor con la hormona correspondiente provoca cambios conformacionales que posibilitan la translocación de dicho receptor al núcleo y la consecuente transcripción de genes diana, por el reconocimiento de unas secuencias específicas denominadas elementos de respuesta a estrógenos (ERE). La interacción con otros factores de transcripción es diferente dependiendo del tipo de receptor implicado (α o β) lo que se ha propuesto como explicación al hecho de que su activación por los mismos ligandos provoque en algunos casos efectos opuestos. En realidad, la sensibilidad de las células tumorales mamarias (MCF-7) a la melatonina es dependiente de la ratio ER α :ER β , disminuyendo a medida que aumenta la expresión del ER β [36].

En cuanto a sus acciones como **SERM**, la melatonina tiene unas características especiales que las diferencian de otros antiestrógenos como el tamoxifeno ya que esta hormona no se une a los ER ni afecta en modo alguno la unión E₂-ER. La **figura 8** resume los mecanismos de las acciones antiestrogénicas de la melatonina en el caso particular del cáncer de mama.

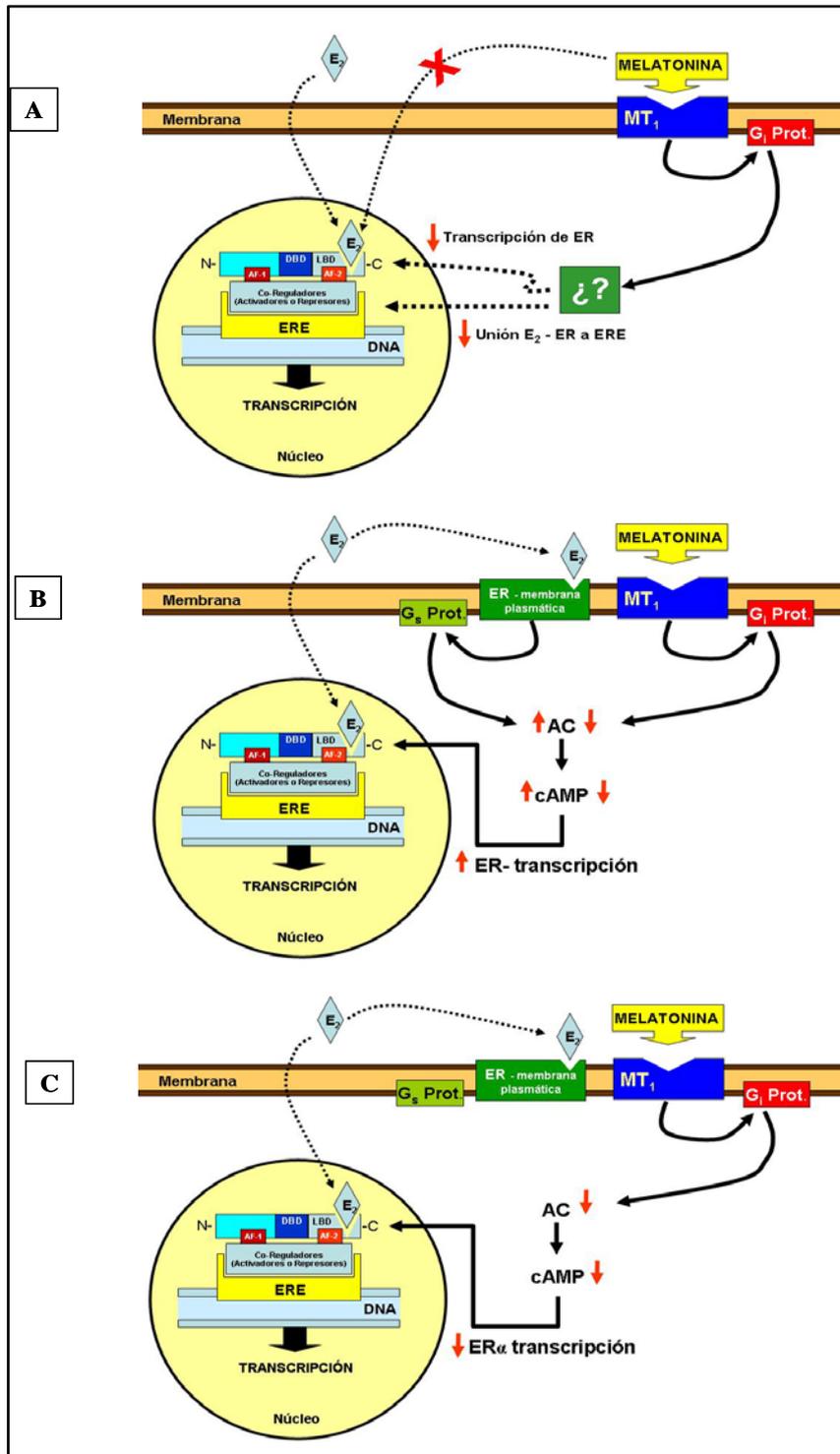


Figura 8. Esquema de las acciones SERM de la melatonina. A) Los efectos antiestrogénicos de la melatonina están mediados a través de su unión al receptor de membrana (MT_1). Cuando esta hormona está unida a su receptor es capaz de bloquear la unión del complejo E_2 -ERE al ADN, impidiendo así la transcripción. **B)** La melatonina es capaz de unirse al complejo Ca^{2+} -CaM, impidiendo por tanto la unión de esta proteína al ER e inhibiendo el proceso de transcripción. La unión de la CaM al ER es específica del subtipo α , lo cual demostraría porque la melatonina sólo es capaz de actuar sobre el ER α . **C)** La unión de la melatonina a su receptor MT_1 provocaría una disminución de los niveles de cAMP y, por tanto, no se produciría la fosforilación del ER, necesaria para el proceso de transcripción. Adaptado de [41].

Sus acciones se concretan en:

- a) Disminución de la expresión de ER en los tejidos hormono-dependientes.
- b) Inhibición de la unión del complejo E₂-ER al ERE en el ADN. La melatonina, a diferencia de otros antiestrógenos sintéticos como el tamoxifeno, no afecta a la unión de coactivadores del ER α , lo que pone de manifiesto que sus acciones antiestrogénicas se llevan a cabo mediante mecanismos distintos [36]. Asimismo es importante reseñar que en ausencia de estradiol la melatonina no afecta a la actividad transcripcional del receptor de estrógenos. Tal y como ya se ha comentado en este trabajo, la interacción entre la vía de señalización estrogénica y la melatonina podría ser a través de la modulación de las concentraciones de AMPc intracelular.
- c) La calmodulina (CaM) podría ser otro elemento de interacción entre estrógenos y melatonina [37]. La unión de CaM a los ER α estimula su fosforilación y facilita la formación del complejo E₂-ER y su unión al ERE. La melatonina se une directamente a la CaM inactivándola y contrarrestando así sus posibles efectos sobre la transcripción dependiente del ER α .

Se ha descrito también que la sobreexpresión del receptor de ácido retinoico (ROR α) estimula la actividad transcripcional del ER α , y este efecto es inhibido por la melatonina [38].

Recientemente también se ha postulado un papel del sistema ubiquitina-proteasoma en la etiología del cáncer de mama, ya que algunas de sus enzimas (SCF^{skp2}, E6AP y APC) modulan los mecanismos de transcripción mediados por el receptor de estrógenos. En un estudio reciente de 2015 llevado a cabo en células MCF-7 se demostró que la melatonina tenía efectos similares al uso de inhibidores del proteasoma sobre la disminución de la transcripción génica inducida por estrógenos [39].

3.2.2. Propiedades SEEM de la melatonina

En mujeres premenopáusicas, el 70% de los estrógenos provienen de la producción ovárica y el 30% de la conversión de andrógenos a estrógenos en los tejidos periféricos. Sin embargo, después de la menopausia predomina la síntesis extragonadal de estrógenos a partir de precursores androgénicos de origen suprarrenal, que ocurre principalmente en el tejido adiposo mamario [8, 14, 15].

Uno de los mecanismos de interacción de la melatonina con las vías de señalización de los estrógenos está relacionado con su capacidad para regular la actividad de los enzimas encargados de la síntesis y transformación de los estrógenos tanto a nivel gonadal como extragonadal [14].

La biosíntesis de estrógenos a partir de los andrógenos suprarrenales tiene lugar gracias a la acción combinada de varios enzimas (**figura 9**). Los andrógenos dehidroepiandrosterona (DHEA) y androstenediona procedentes del torrente sanguíneo llegan a las células productoras de estrógenos donde serán convertidos a estrona gracias a la acción de la *P450 aromatasa*, o bien en

androstenediol o testosterona respectivamente, en una reacción mediada por la *17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (17 β -HSD1)*. Este mismo enzima, además, es capaz de realizar la interconversión de la estrona en estradiol. Finalmente, las *sulfotransferasas (EST)*, se encargan de catalizar la unión de un grupo sulfato a la estrona o al estradiol, inactivándolos y permitiendo que se liberen a la sangre desde donde actúan a modo de reservorio de estas hormonas. La activación de estas hormonas mediante la hidrólisis de su grupo sulfato tiene lugar mediante la acción de las *sulfatasas (STS)* [40].

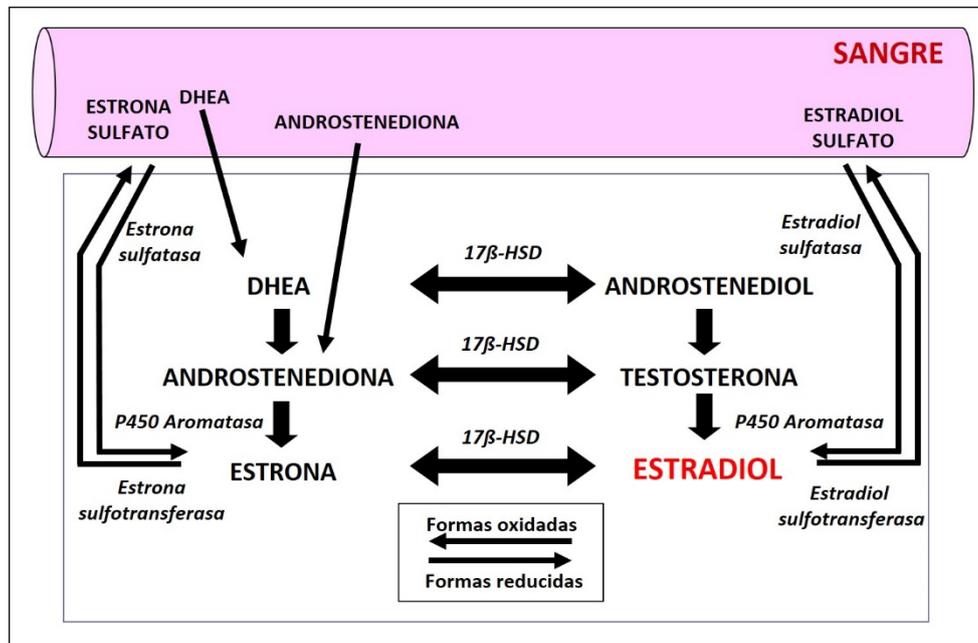


Figura 9. Resumen de los principales mecanismos enzimáticos implicados en la biosíntesis de estrógenos a partir de andrógenos.

En la mama normal, la síntesis local de estrógenos está desplazada hacia la producción de estrona, mientras que las células tumorales tienden a sobreexpresar aromatasa, sulfatasa y 17β -hidroxiesteroide-deshidrogenasa, lo que resulta en la acumulación de esta hormona en los alrededores del tumor. Por su parte, la estrógeno sulfotransferasa, encargada de inactivar la estrona y el estradiol, se encuentra frecuentemente expresada en niveles bajos en la mama tumoral.

Con respecto al papel de la melatonina como modulador SEEM se han publicado numerosos trabajos tanto *in vitro* como *in vivo* que avalan la capacidad de esta indolamina de reducir la síntesis extragonadal de estrógenos. Así por ejemplo se ha visto que en células tumorales mamarias (MCF-7) la melatonina inhibe tanto la expresión como la actividad de la aromatasa, esteroide sulfatasa y la 17β -hidroxiesteroide deshidrogenasa, mientras que aumenta ambos parámetros en el caso de la estrógeno sulfotransferasa, regulando la síntesis local de estrógenos hacia niveles similares al tejido mamario normal (**figura 10**) [14].

El mecanismo propuesto para explicar estos efectos se basa en la capacidad de la melatonina para inhibir la actividad y expresión de las ciclooxigenasas, reduciendo así la producción de PGE2 en la célula.

Esta reducción en la producción de PGE2 supone una menor capacidad para incrementar los niveles de AMPc intracelulares y, por tanto, para conseguir la activación de los promotores de la aromatasa p11 y p1.3, dando lugar a una expresión moderada del enzima. Por otra parte, la acción directa de la melatonina sobre los niveles de AMPc intracelulares, a través de su unión al receptor de membrana MT₁ supone otro mecanismo por el cual la hormona pineal impide la activación de los promotores p11 y p1.3 [42].

Similares resultados se han obtenido en modelos *in vivo*, valorando el crecimiento de tumores mamarios inducidos por un carcinógeno químico (DMBA) en ratas ovariectomizadas y tratadas con andrógenos. Concretamente se demostró la capacidad de la melatonina para inhibir el crecimiento tumoral, bloqueando la transformación de los andrógenos en estrógenos, dependiente de la aromatasa [43] y de la sulfatasa [44].

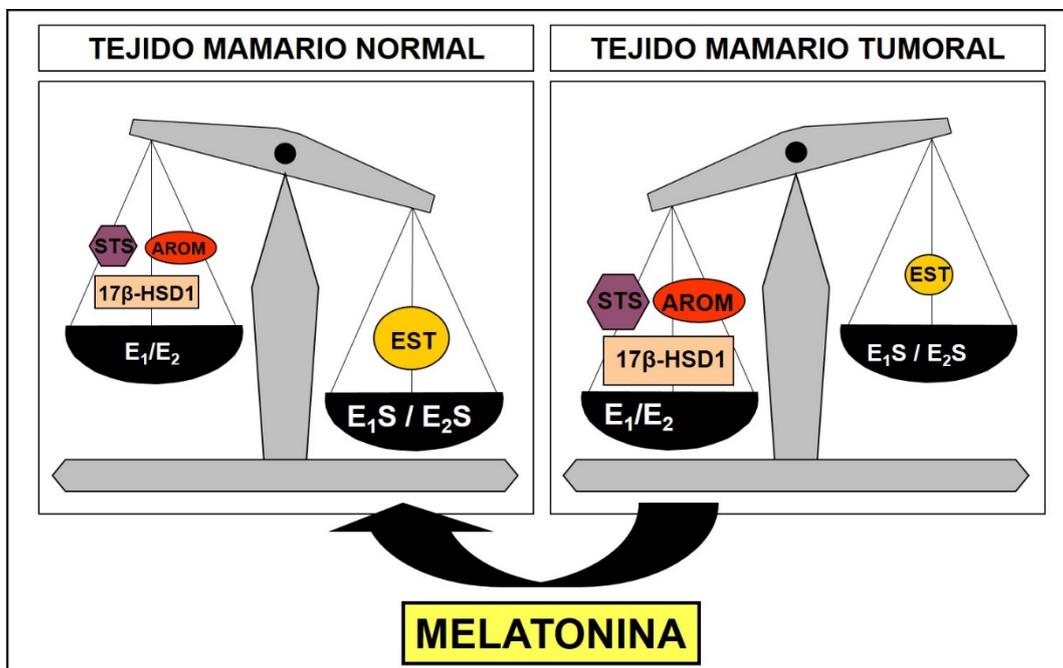


Figura 10. Esquema de las acciones SEEM de la melatonina en el tejido tumoral mamario. La melatonina inhibe la expresión y actividad de la enzima aromatasa (AROM), la sulfatasa (STS) y la 17β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (17β-HSD1), mientras que aumenta la actividad de la sulfotransferasa (EST). En definitiva, a través de estos mecanismos, la melatonina revierte el incremento en la expresión de aromatasa, 17β-HSD1 y STS característicos del tejido tumoral mamario [14].

Hasta ahora hemos descrito los efectos de la melatonina sobre la actividad aromatasa en las células de cáncer de mama. No obstante, en los tumores mamarios la mayor parte de esta actividad se encuentra en el tejido adiposo mamario, que está formado por los fibroblastos (90%) y por las células endoteliales (10%) del tejido vascular. La síntesis local de estrógenos depende por tanto de las interacciones paracrinas establecidas entre las células epiteliales malignas, y los fibroblastos y células endoteliales de los tejidos subyacentes.

La reacción desmoplásica consiste en la formación de una densa capa de fibroblastos indiferenciados que tienen una gran actividad aromatasa y por tanto aseguran un correcto aporte de estrógenos a las células tumorales en crecimiento. Se ha demostrado recientemente que la melatonina favorece la expresión de los factores de transcripción (PPAR y c/EBP) implicados en la diferenciación de fibroblastos a adipocitos maduros. Además esta indolamina reduce la actividad aromatasa en ambos tipos celulares, disminuyendo así la producción local de estrógenos. Por último, es capaz de promover la diferenciación de los fibroblastos mediante un mecanismo indirecto al reducir la síntesis y secreción de citoquinas antiadipogénicas por parte de las células epiteliales malignas y de los propios fibroblastos [45,46].

En resumen, las acciones antiestrogénicas de la melatonina pueden ser explicadas tanto a través de sus propiedades SERM como SEEM. Además, se ha demostrado que esta indolamina es capaz de inhibir de manera específica la transactivación mediada a través del ER α . Todo ello en conjunto avala el potencial terapéutico de esta hormona para su posible uso en el tratamiento del cáncer de mama (**figura 11**).

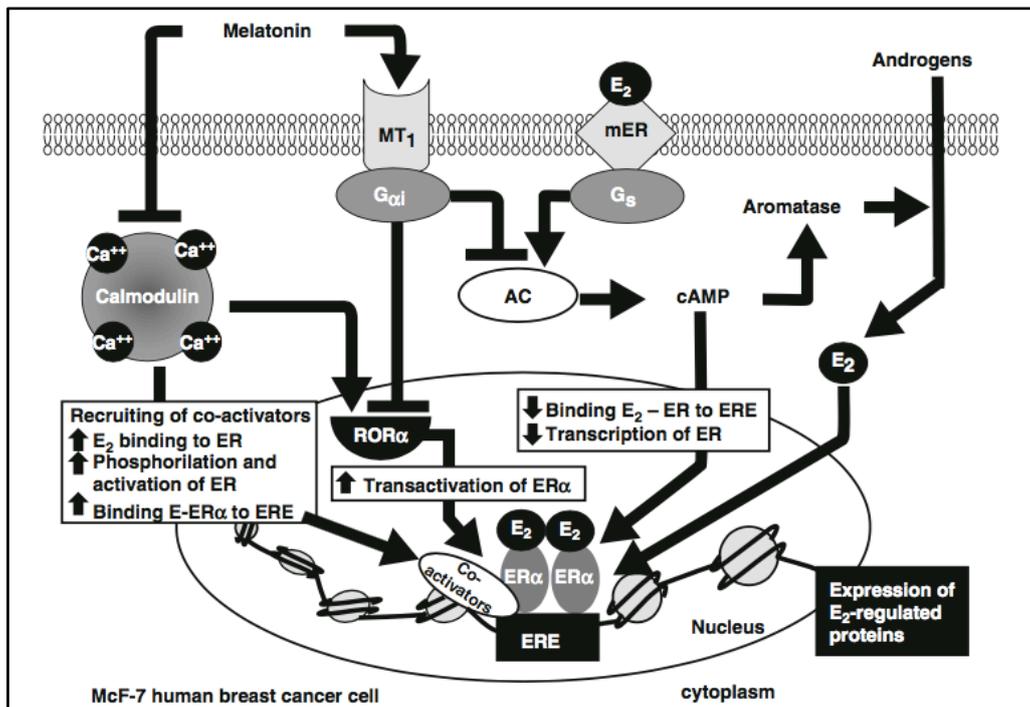


Figura 11. Resumen de los mecanismos involucrados en las acciones SERM y SEEM de la melatonina. Como SERM, la melatonina inhibe tres vías que potencian la activación del ER α inducida por estradiol: A) una dependiente de la cascada de AMPc; B) una vía dependiente de la calmodulina; C) en tercer lugar mediante la inhibición de ROR α , ya sea por activación de MT1 o por sus efectos como antagonista de CaM. En relación a sus propiedades como SEEM, la unión a sus receptores MT1 provoca una disminución del AMPc, e inhibe la expresión y la actividad de la aromatasa P450 tanto en el tejido tumoral como peritumoral. Por último y pese a que no se muestra en la imagen, la melatonina también inhibe la estrógeno sulfatasa mientras aumenta la actividad de la sulfotransferasa.

3.3. Regulación del ciclo celular, diferenciación y apoptosis

La regulación del ciclo celular y la inducción de vías de apoptosis son dos mecanismos principales en el control del crecimiento tumoral, ya que éste viene dado por el balance entre proliferación y muerte celular.

Los efectos antiproliferativos de la melatonina son dependientes del ciclo celular. En concreto, se ha descrito en células MCF-7 que esta hormona aumenta la proporción de células en fase G_0/G_1 y por tanto desencadena un retraso en el paso a la siguiente fase (fase S), es decir, reduce el porcentaje de células en fase S [9, 47]. Al mismo tiempo, reduce la tasa de duplicación del ADN en aquellas células que logran alcanzar la fase de replicación [48]. El mecanismo propuesto está relacionado con la modificación de la expresión de proteínas implicadas en el control de la transición G_1 -S. La melatonina induce un aumento en la expresión de p53 y p21/WAF, que actúan como reguladores negativos inhibiendo las quinasas dependientes de ciclinas e impidiendo la fosforilación de la proteína Rb (retinoblastoma), que forma parte del último punto de control de la fase G_1 . En definitiva, se bloquea la entrada en la fase de replicación. Asimismo también inhibe la transcripción de la ciclina D1 mediada por las proteínas c-Jun y ATF-2 [49,50].

Como se ha mencionado anteriormente, también se ha considerado la importancia del sistema ubiquitina-proteasoma en el cáncer de mama, por su posible implicación en la regulación del ciclo celular. En la transición G_1 a S, la ubiquitina ligasa SCF^{skp2} se encarga de someter a la p21 y a la p27 a ubiquitinación, antes de la degradación. Los niveles bajos de p27 en las células tumorales de mama son una indicación de mal pronóstico, lo que ha llevado a que se considere a SCF^{skp2} como una posible diana terapéutica [39].

La acumulación de células en fase G_1 inducida por melatonina lleva a las células a entrar en una fase quiescente (G_0), en la cual adquieren un mayor grado de diferenciación. Dado que los tumores bien diferenciados presentan un mejor pronóstico y suelen ser menos agresivos, este mecanismo se ha considerado como uno de los responsables de los efectos beneficiosos de la melatonina cuando se administra a pacientes con cáncer [51].

Por último otro de los mecanismos implicados en los efectos antiproliferativos de la melatonina está relacionado con su capacidad para inducir apoptosis. Se ha descrito que la melatonina promueve la apoptosis en diferentes líneas celulares tumorales, incluidas las células mamarias [52].

Más concretamente:

- Una posible explicación está relacionada con el gen supresor de tumores p53. Se produciría un incremento de la tasa p53/MDM2 que a su vez induce un aumento de la expresión de proteínas proapoptóticas como Bax y Bad y disminuye otras antiapoptóticas como Bcl-2.
- Un segundo mecanismo implicado estaría relacionado con los procesos apoptóticos dependientes de TGF- β , produciéndose un aumento de la caspasa 8 que a su vez actúa como inductora de las caspasas 3,6 y 7, dando lugar a la apoptosis.

3.4. Inhibición de la actividad telomerasa

La telomerasa es una ribonucleoproteína que tiene como función principal añadir repeticiones teloméricas *de novo* para poder mantener la longitud del telómero estable a lo largo de los ciclos replicativos de las células en las que se encuentra presente. Es una enzima que se encuentra sobreexpresada en la mayor parte de tumores y sin embargo no aparece en los tejidos normales, a excepción de las células madre, órganos hematopoyéticos y células reproductoras.

La actividad telomerasa, mediada principalmente a través de su subunidad catalítica (hTERT), está considerada como una diana terapéutica en el abordaje del cáncer, pues su inhibición lleva a la muerte celular [53]. En células tumorales mamarias humanas el estradiol estimula la expresión de hTERT y la actividad de la telomerasa, pero no tiene efecto sobre las células que carecen de receptores estrogénicos alfa, lo que se puede explicar por la existencia de elementos de respuesta a estrógenos en el promotor de hTERT. La melatonina por su parte es capaz de revertir estos efectos inducidos por el estradiol, inhibiendo tanto la expresión de la subunidad hTERT como la actividad telomerasa [54,55].

3.5. Inhibición de metástasis tumoral

En el proceso de invasión tumoral tradicionalmente se distinguen tres etapas. Una primera en la que las células tumorales deben reconocer e interactuar con la matriz extracelular que las rodea, para ello deben adherirse a la membrana basal. En segundo lugar deben degradar esa matriz, para en una tercera fase migrar para llegar a formar un tumor secundario a distancia del tumor primario. La melatonina va a tener en este proceso de invasión una acción en todo momento opuesta al estradiol. Así en estudios *in vitro* llevados a cabo en células MCF-7 se ha demostrado que la melatonina es capaz de disminuir su capacidad invasiva y revierte el efecto estimulador del estradiol sobre la capacidad de adhesión y de migración de las células [35].

Las moléculas encargadas de la adhesión celular son las cadherinas, necesarias para que las células se mantengan unidas. En las células tumorales, estas moléculas faltan, lo que se relaciona con un aumento de la invasión tumoral. Por otro lado, la adhesión a la matriz extracelular permite a las células sobrevivir y proliferar. Si una célula pierde su capacidad de adhesión a la matriz extracelular se desprenderá de su tejido de origen. Esta unión está mediada por las integrinas. La melatonina aumenta la expresión tanto de cadherinas (E-cadherina) como de integrinas (β 1-integrina) [56]. Además la melatonina también produce cambios en la fosforilación de la vimentina, una proteína involucrada en la adhesión, migración e invasividad celular, lo que puede contribuir a disminuir su potencial metastásico.

3.6. Acciones antioxidantes

En condiciones normales, nuestro organismo es capaz de neutralizar la producción de radicales libres de oxígeno (ROS) y peróxido mediante una combinación de antioxidantes enzimáticos (superóxido dismutasa y catalasa, que convierten ROS en agua) y antioxidantes no enzimáticos (vitamina E, β -caroteno, vitamina C y glutatión).

En procesos patológicos los radicales libres pueden encontrarse en exceso. Este cambio en el equilibrio a favor de la oxidación, denominado estrés oxidativo puede tener efectos perjudiciales a nivel celular y tisular. Se ha visto que el estrés oxidativo está implicado en la carcinogénesis, crecimiento celular, diferenciación y apoptosis, por lo que se ha sugerido que la potenciación de los mecanismos antioxidantes que posee el organismo pueda proteger frente al cáncer.

Tanto la melatonina como sus metabolitos son considerados potentes antioxidantes por varias razones:

1. Su capacidad para neutralizar directamente radicales libres y especies reactivas de oxígeno.
2. Estimula la síntesis de sustancias antioxidantes como el óxido nítrico, que tiene un efecto antiproliferativo en la célula al inhibir un enzima imprescindible para la síntesis de ADN [57, 58].
3. Aumenta la actividad de enzimas antioxidantes como glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa y catalasa.
4. Inhibe la actividad de enzimas oxidantes [59].

Por último es importante señalar que dado que tanto la quimioterapia como la radioterapia promueven la formación de radicales libres y daño oxidativo no sólo a nivel tumoral sino también en los tejidos sanos, las acciones de la melatonina aquí descritas avalan una vez más su uso como terapia antioxidante que promovería una reducción de la toxicidad de estos fármacos y al mismo tiempo un aumento de su eficacia [60].

3.7. Acciones antiangiogénicas

La creación de nuevos vasos sanguíneos que aporten oxígeno y nutrientes al tumor en crecimiento es un hecho fundamental para la progresión tumoral. La correlación entre melatonina y algunos factores angiogénicos ha sido demostrada a partir de varias evidencias experimentales. En concreto, se ha comprobado el efecto inhibitorio de la melatonina sobre la expresión del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), tanto en células tumorales mamarias como en células endoteliales [61, 62].

El mecanismo por el cual tiene lugar esta inhibición del VEGF parece estar relacionado con desestabilización del factor HIF-1 α o bien la inhibición de su expresión, impidiendo así la transcripción del gen de VEGF en condiciones de hipoxia. La melatonina, gracias a sus propiedades antioxidantes, neutralizaría las especies reactivas de oxígeno producidas durante la hipoxia, estabilizando así el HIF-1 α , lo que constituye un mecanismo indirecto de inhibición de la angiogénesis tumoral [32].

Por último se ha propuesto que la actividad antiangiogénica de la melatonina también tiene lugar mediante una serie de mecanismos indirectos. Uno de ellos se basa en la inhibición de algunos factores de crecimiento (IGF-1, EGF y ET-1), que además de funcionar como mitógenos, también tienen propiedades proangiogénicas.

A la luz de estos resultados se podría concluir que dado que el control de la angiogénesis es uno de los objetivos en la limitación de la progresión del cáncer, las propiedades antiangiogénicas de la melatonina podrían tener una posible aplicación futura en el campo de la terapéutica oncológica.

3.8. Acciones inmunomoduladoras

La modulación del sistema inmune aparece en los últimos tiempos como una posible estrategia en el tratamiento contra el cáncer, induciendo una potente respuesta antitumoral. En este sentido, la melatonina es considerada como un potente estimulador de la función inmune. En primer lugar se han realizado estudios experimentales en los que se comprobó que en animales sometidos a pinealectomía, se producía una reducción significativa del peso de órganos como el bazo o el timo, y había un descenso en la respuesta inmunitaria. Del mismo modo se ha demostrado que la administración de melatonina aumenta la producción de interleuquinas (IL-1, IL-6, IL-12) y citoquinas (TNF- α), monocitos, leucocitos y células NK. Un resumen de los principales efectos sobre el sistema inmune se muestra en la **figura 12** [32, 63].

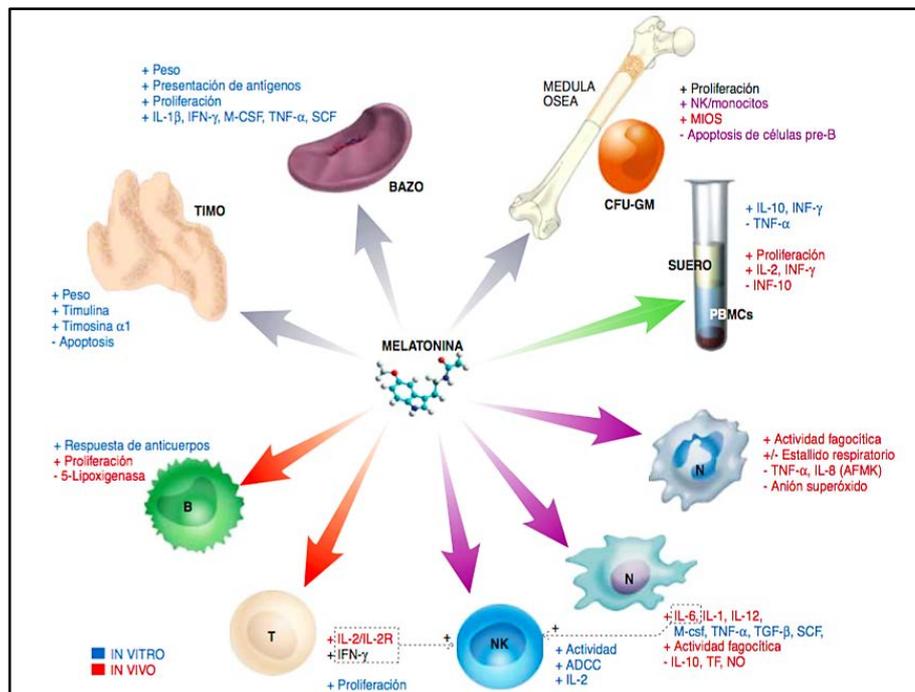


Figura 12. Resumen de las principales acciones inmunomoduladoras de la melatonina. (AFMK, N-acetil-N-formil-5-metoziquinuramina ; MIOS, sistema de opiáceos estimulados por melatonina; IFN- γ , interferón gamma; IL-2, interleucina 2; IL-6, interleucina 6; IL-1, interleucina 1; IL-8, interleucina 8; IL-10, interleucina 10; IL-12, interleucina 12; TNF α , factor de necrosis tumoral; SCF, factor de crecimiento de células progenitoras; TGF- β , factor de crecimiento transformante beta; NO, óxido nítrico; ROI, radicales de oxígeno; T, linfocitos T; B, linfocitos B; NK, células natural killer; N, neutrófilos; ADCC, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos.

3.9. Acciones epigenéticas

Los factores epigenéticos juegan un papel fundamental en el desarrollo de tumores. Dentro de los mecanismos epigenéticos podríamos incluir:

1. Metilación del ADN: un alto grado de metilación en genes reguladores del ciclo celular y genes reparadores de ADN está asociado a un aumento de formación de tumores y también a silenciamiento de genes.
2. Modificación de histonas.
3. Presencia de ARN no codificante, que se une tanto al ADN como al ARN y puede alterar los mecanismos transcripcionales y traduccionales.

No hay una evidencia clara sobre las acciones de la melatonina sobre mecanismos reguladores epigenéticos, aunque existen datos indirectos que sugieren su implicación. En este sentido recientemente se ha demostrado en células tumorales mamarias que la melatonina produce cambios en el patrón de metilación de determinados genes [64].

3.10. Acciones preventivas en la cronodisrupción

La definición actual de cronodisrupción (CD) es la de *“una perturbación relevante de la organización circadiana de la fisiología, endocrinología, metabolismo y conducta, que relaciona luz, ritmos biológicos y desarrollo de tumores, con la melatonina como molécula clave en la intermediación de estos efectos”* [65]. En consecuencia, cronodisruptores son todos aquellos elementos capaces de inducir una disfunción circadiana, siendo la exposición a la luz nocturna uno de los cronodisruptores exógenos más importantes. En concreto, la exposición a la luz nocturna (LAN) contribuye a la cronodisrupción por un lado alterando los ritmos biológicos internos y por otro suprimiendo la síntesis nocturna de melatonina.

Una elegante justificación de esta relación se basa en la existencia de alteraciones en los ritmos de secreción de melatonina en mujeres con tumores mamarios, ya comentado en esta memoria [29].

Otro dato indirecto de este hecho lo avala el trabajo de Blask y cols., (2005) quienes demostraron la inhibición del crecimiento tumoral en tumores inducidos en ratas, al ser perfundidos con suero obtenido de mujeres en oscuridad. El suero de las mismas mujeres, pero obtenido bajo iluminación, no modificaba el crecimiento tumoral [66]. Este efecto supresor de los niveles nocturnos de melatonina por un pequeño haz de luz durante la noche ha sido demostrado en el laboratorio en ratas sometidas a contaminación lumínica nocturna, lo que aumentaba el desarrollo de tumores mamarios inducidos químicamente [67].

Asimismo, existen actualmente varios estudios epidemiológicos que avalan el papel de la cronodisrupción en la etiología del cáncer, particularmente los hormono-dependientes como el de mama, ovario, próstata o endometrio. En la **figura 13** se muestra la correlación entre la incidencia de cáncer de mama y la exposición a luz nocturna en un estudio realizado en el estado americano de Georgia.

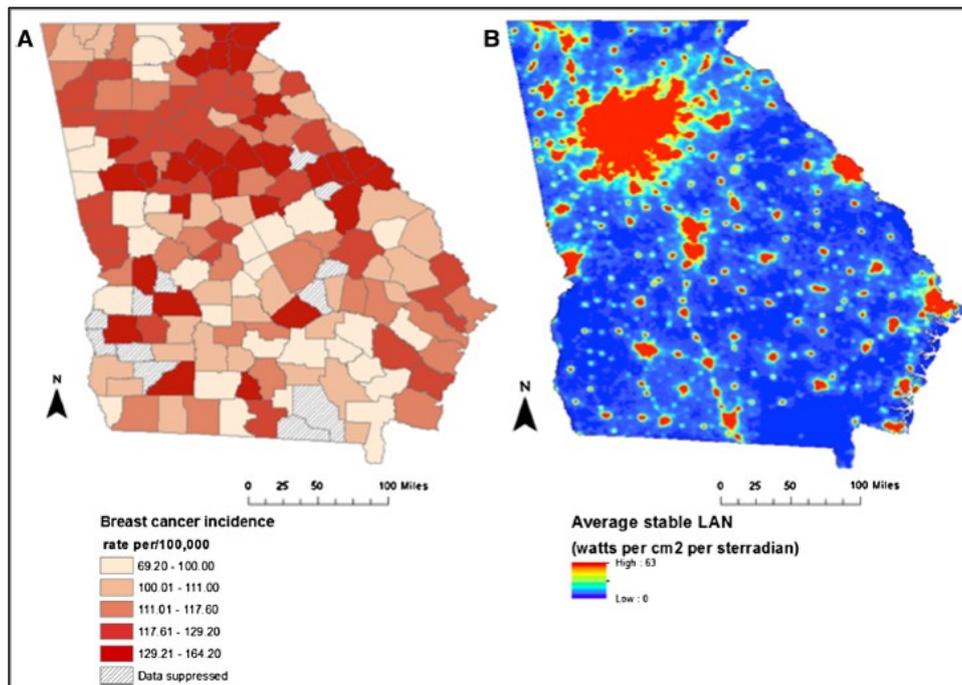


Figura 13. Correlación entre la incidencia de cáncer mamario (izquierda) y la exposición a luz nocturna (LAN) (derecha) en el estado americano de Georgia, durante el periodo 2005-2009. Tomado de [68].

En los últimos años los grupos de Blask y Hill han demostrado que la supresión nocturna de la producción de melatonina altera numerosos procesos metabólicos y vías de señalización que finalmente pueden contribuir a la formación y/o progresión tumoral. En concreto, han demostrado que dicha supresión produce una aceleración de todos los procesos metabólicos, la captación celular de glucosa y su metabolismo a lactato a través de la glucólisis, conocido como efecto Warburg, hiperglucemia e hiperinsulinemia. Estas alteraciones promueven el crecimiento tumoral [69].

Todos estos datos avalan que la exposición a la luz durante la noche, induce una disrupción del ciclo circadiano con una alteración en la expresión de genes y en la secreción de la melatonina, con la consiguiente disminución de las acciones oncostáticas de esta hormona sobre células tumorales, incrementándose la posibilidad del desarrollo de tumores.

3.11. Acciones en el transporte y metabolismo de los ácidos grasos

Con el fin de satisfacer sus necesidades energéticas y llevar a cabo el rápido aumento de la masa tumoral, las células cancerosas siguen principalmente el efecto Warburg en lugar de utilizar la vía de fosforilación oxidativa.

La proliferación de células tumorales se produce en parte gracias a la captación celular de ácido linoleico (LA) que metabolizan a ácido 13-hidroxióctadecadienoico (13-HODE) por la enzima *15-lipoxigenasa-1*. En tumores se ha comprobado que el 13-HODE ejerce un efecto de retroalimentación positiva sobre el crecimiento a través de vías de señalización como ERK1/2 y AKT, que conducen finalmente a la proliferación celular. La relación propuesta entre los niveles de ácido linoleico y la melatonina se expone en la **figura 14**. Brevemente, durante la exposición a la luz los niveles de LA son bajos, así como la concentración de melatonina. El AMPc estimula la captación de LA y su metabolización a 13-HODE. A su vez, el aumento de la producción de 13-HODE estimula la fosforilación de AKT que conduce a la glucólisis aeróbica (efecto Warburg) y la proliferación celular. En cambio, durante la fase de oscuridad, la melatonina a través de su unión a receptores MT1 y disminuye la formación de AMPc, bloqueando así la captación de LA y consecuentemente su metabolismo a 13-HODE. Esto llevaría finalmente a una disminución de la glucólisis aerobia y del crecimiento tumoral. En definitiva, la disminución de la melatonina, que facilitaría la formación de 13-HODE, sería un factor positivo de progresión de los procesos tumorales.

En definitiva, el efecto directo de la melatonina sobre el metabolismo de los ácidos grasos se basa en la disminución de la producción de AMPc, y la inhibición de la captación de ácidos grasos por los transportadores de las células. Se produce una disminución de la disponibilidad de sustratos energéticos, lo que podría considerarse como un mecanismo antiproliferativo de la melatonina.

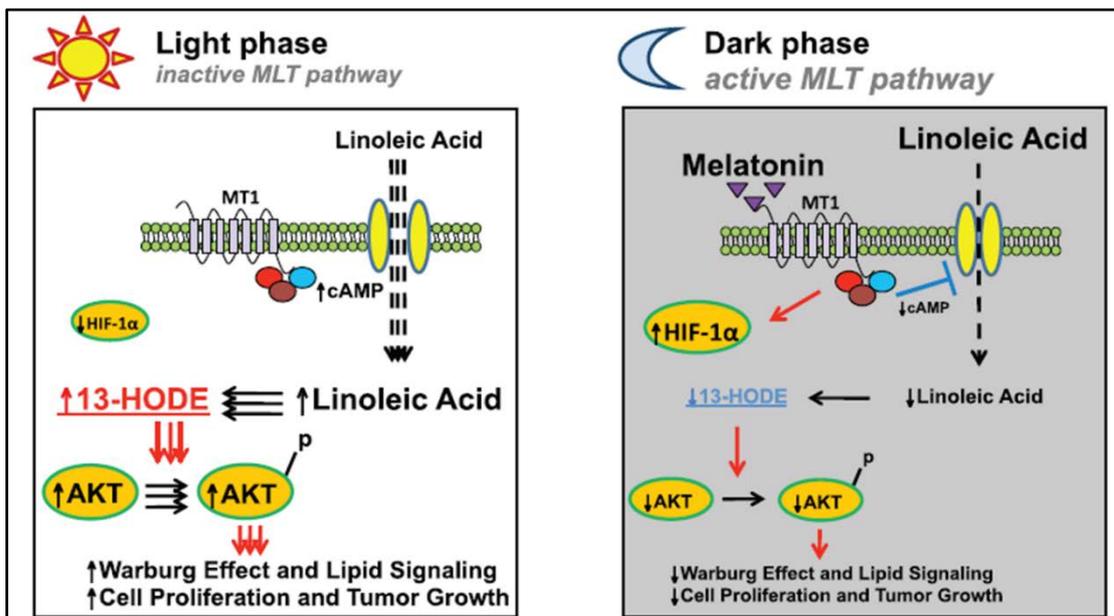


Figura 14. Papel de la melatonina como regulador de la entrada de ácido linoleico (LA) en la célula tumoral. Tomado de [69].

4. PERSPECTIVAS TERAPÉUTICAS DEL USO DE LA MELATONINA EN EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER DE MAMA

4.1. La melatonina en ensayos clínicos en pacientes con cáncer

Hasta la fecha, se han llevado a cabo numerosos ensayos clínicos para evaluar los efectos de la melatonina en pacientes con diversos tipos de cáncer. Desde el primer ensayo clínico llevado a cabo, con resultados positivos, por Lissoni y cols., en 1987 se han publicado varios trabajos apuntando en la misma dirección, es decir, a los efectos positivos de la administración de melatonina durante la quimio- y la radioterapia [70].

En este sentido, se ha postulado que en pacientes con tumores sólidos metastásicos con mal pronóstico de pulmón, mama y gastrointestinal, la administración de melatonina como adyuvante a la quimioterapia resultó tener efectos beneficiosos sobre algunos efectos secundarios tales como la trombocitopenia, astenia, estomatitis y neuropatías. Además se ha visto que protege frente a la cardio- y neurotoxicidad asociada a los quimioterápicos e incrementa la supervivencia y la regresión tumoral. Dado que en la mayor parte de estudios se trataba de tumores avanzados, no hubo respuesta total al tratamiento, si bien la respuesta parcial fue mejorada en aquellos grupos que recibieron melatonina como adyuvante de la quimioterapia [71-73].

Asimismo, se ha descrito también que protege a las células precursoras hematopoyéticas de los efectos nocivos de la quimio- y la radioterapia [74].

En otro ensayo clínico llevado a cabo en 2003 también por el grupo de Lissoni, en este caso en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas, tratados con quimioterapia y melatonina como adyuvante, se ha demostrado que la inclusión de la hormona pineal en el tratamiento aumentó la supervivencia a 5 años, así como el número de casos de regresión tumoral [75].

Pese a que la mayor parte de los ensayos clínicos avalan el efecto beneficioso de la melatonina como terapia adyuvante a la quimioterapia y/o radioterapia, también existen algunos ensayos con resultados negativos. Así por ejemplo la melatonina no ha demostrado tener efectos beneficiosos sobre parámetros tales como la pérdida de apetito o la pérdida de peso en pacientes con tumores avanzados de pulmón o gastrointestinal en comparación con el grupo que recibió quimioterapia sola [76]. Y similares resultados han sido descritos en otro ensayo en este caso realizado en pacientes con tumor cerebral que habían sido tratados con radioterapia sola o en combinación con melatonina [77].

A modo de conclusión, en una revisión sistemática publicada en el año se recogen los datos presentes en la literatura para todos los ensayos controlados aleatorizados (ECA) que examinaron la supervivencia a un año con el uso de melatonina en el tratamiento de una variedad de tumores sólidos. De los 24 ensayos clínicos basados en melatonina y cáncer encontrados en las bases de datos, finalmente los autores consideraron seleccionar únicamente sólo 10 ensayos clínicos para valorar la supervivencia a un año. En todos ellos se obtuvo un efecto consistente sobre este parámetro. Hay que destacar que se trataba de tumores avanzados, que en muchos casos ya no respondían a terapias

convencionales. El gran tamaño de la muestra y el bajo número de eventos adversos serían de interés para los clínicos y pacientes [78].

Por último, pese a que la mayor parte de los datos avalan el papel beneficioso de la melatonina, hay varias limitaciones derivadas de todos estos ensayos clínicos, que deberían ser consideradas a la hora de su interpretación:

- a) Lo más significativo es que la misma red de investigadores en Italia y Polonia, realizaron los ensayos clínicos. Por esta razón, no está claro que los mismos pacientes se incluyeran en varios estudios y por tanto, aparezcan resultados sesgados.
- b) La gran variedad de tumores sobre los que se ha trabajado, así como que en la mayor parte de los casos se trataba de tumores en estadios muy avanzados, con muy mal pronóstico.
- c) Diversidad en los tipos de tratamiento, habiendo sido combinada la melatonina con agentes de quimioterapia, radioterapia o terapias alternativas.
- d) Dosis de melatonina empleadas: En la mayor parte de los estudios se situó en un rango de 20-40 mg, siempre administrada de manera oral y varias horas antes del inicio del sueño. Esta dosis es mucho mayor que la utilizada para el tratamiento de los trastornos del sueño (1,5-5 mg). Esto plantea la cuestión de la toxicidad y si hay o no efectos secundarios significativos a estos niveles. En este sentido la melatonina se considera relativamente inocua, incluso a dosis altas, y los ensayos de Lissoni y cols no informaron de efectos secundarios significativos [79- 83].

4.2. Melatonina como agente sensibilizador a la radioterapia

En los últimos años se ha sugerido una mayor eficacia de la hormonoterapia y la radioterapia si son administradas de manera conjunta, ya que protege o disminuye sus efectos secundarios, y en algunos casos, potencia sus efectos oncostáticos [84].

Respecto a los resultados obtenidos en los estudios *in vitro*, cabría destacar por ejemplo que el tratamiento con fulvestrant sensibiliza a las células tumorales mamarias a la radioterapia o que los inhibidores de la aromatasa modulan la sensibilidad de las células tumorales a las radiaciones. Tanto en el caso de los SERMs como de los SEEMs el mecanismo modulador de la radiosensibilidad descrito parece actuar sobre los niveles de ER α en las células tumorales, el bloqueo de las mismas en la fase G₁ del ciclo celular y sobre otras vías estrógeno-dependientes como p53 y p21WAF [85].

Con respecto a la melatonina se ha demostrado recientemente que sensibiliza a las células tumorales mamarias a los efectos de la radiación ionizante mediante la inhibición tanto de la expresión como la actividad de las enzimas implicadas en la formación de estrógenos. Además, también aumenta la expresión de p21WAF1 y p53 lo que también puede intervenir en la modulación de la radiosensibilidad [86]. En la misma línea, también se ha demostrado que el pretratamiento con melatonina sensibiliza a la radiación ionizante, disminuyendo la expresión de dos de las proteínas más representativas de las vías de reparación del ADN como son DNA-PKcs y RAD-51.

Similares resultados se han obtenido en estudios *in vivo*, en los que se ha demostrado por ejemplo que la administración de melatonina a las ratas antes de la radiación, protege contra el daño molecular mediante el aumento de las enzimas endógenas antioxidantes, la depuración de los radicales libres generados por la radiación, y el aumento del recuento de linfocitos [87].

En conjunto, estos hallazgos sugieren que la melatonina podría ser un buen candidato para utilizar junto a los tratamientos clásicos, y mejorar tanto la eficacia como la toxicidad de los mismos.

Otra posible razón que avala el uso de la melatonina como terapia adyuvante a la radioterapia sería que la radiación induce la formación de radicales libres, que, en muchos casos, son fuente de los efectos secundarios negativos de esta terapia. De ahí que el uso de coadyuvantes antioxidantes pudiera ser una alternativa a la radioterapia convencional ya que los protocolos buscan un alto control del tumor con daño mínimo de tejido normal. Así por ejemplo hay datos experimentales que documentan el efecto protector de la melatonina contra el daño genético en la sangre y la médula ósea y el efecto letal de la radiación de todo el cuerpo en ratones. Además, la melatonina permite el uso de dosis más altas de radiación, lo que resulta en un mejor valor terapéutico de dichos tratamientos [88]. No obstante, no todos los oncólogos consideran que los antioxidantes son beneficiosos en radioterapia; más bien, creen que la producción de radicales libres es parte de los efectos de la muerte tumoral o la radiación [89].

4.3. Melatonina como agente sensibilizador a la quimioterapia

Recientemente, se han publicado varios trabajos con hallazgos relevantes que relacionan a la melatonina y a la quimioterapia. En modelos de xenotransplantes de células de cáncer de mama en ratones desnudos se ha descrito que el tratamiento con melatonina reduce la proliferación celular, el tamaño tumoral e inhibe la angiogénesis [90]. En otros modelos animales de cáncer de mama, la melatonina utilizada conjuntamente con adriamicina ocasiona menor tamaño de los tumores, mayores niveles de apoptosis celular, mayor expresión de E-cadherina y mayores tasas de supervivencia en los animales [91]. Combinada con gemcitabina, se obtuvo una inhibición de la proliferación e invasividad de adenocarcinomas ductales pancreáticos a través de una inhibición de NF- κ B [92].

En experimentos *in vitro*, cuando las células tumorales son tratadas con tunicamicina y melatonina, se produce un incremento en los niveles de Bim y un descenso en los niveles de COX-2, lo que intensifica la apoptosis inducida por la tunicamicina [93]. El cotratamiento con la hormona pineal sensibiliza las células no pequeñas de cáncer de pulmón que portan una mutación en el receptor de EGF al inhibidor de tirosina quinasas gefitinib [94]. En combinación con cisplatino, la melatonina induce la citotoxicidad del mismo y la apoptosis en células de cáncer de pulmón y derivadas de cáncer de cervix [95, 96]. En concordancia con estos hallazgos recientes, el cotratamiento con melatonina y varios agentes quimioterápicos intensificó la citotoxicidad y la apoptosis inducidas por la quimio en una línea celular de cáncer de páncreas [97]. En líneas celulares de leucemia, también se encontró una potenciación de la citotoxicidad

al antimetabolito clorafabina a través de un incremento en los niveles de acetilación. Por último, en células MCF-7 contribuyó al efecto de la doxorubicina sobre la activación del receptor de potencial transitorio vanilloide (TRPV1) induciendo la apoptosis y muerte celular [98].

En definitiva, la melatonina podría utilizarse como terapia coadyuvante de la quimioterapia, ya que protege o disminuye sus efectos secundarios y en algunos casos potencia sus efectos oncostáticos [84]. Asimismo, podría ser posible aumentar la dosificación o frecuencia del tratamiento de quimioterapia si se administra en combinación con melatonina [99, 100].

4.4. Melatonina como agente sensibilizador a nuevas terapias antiangiogénicas

Hoy en día, la inhibición de la angiogénesis en determinados tumores supone una nueva estrategia terapéutica. El primer fármaco antiangiogénico aprobado por la ADA es el Bevacizumab, que ha demostrado retrasar el crecimiento tumoral y alargar la supervivencia en pacientes con determinados tipos de tumores.

Dado que muchos estudios *in vitro* realizados han demostrado las propiedades antiangiogénicas de la melatonina, ejerciendo efectos directamente sobre el VEGF e indirectamente a través de la modulación de factores de crecimiento, ésta podría ser otra razón que avale el uso de esta hormona en el tratamiento de determinados tumores, actuando como un inhibidor de la angiogénesis [101].

4.5. Melatonina como prevención frente al cáncer de mama

4.5.1. Terapia adyuvante en hormonoterapia

En primer lugar, debido a sus propiedades SERM y SEEM que hemos visto con anterioridad y su falta de efectos secundarios negativos, la melatonina podría ser un excelente adyuvante para los fármacos utilizados en prevención y tratamiento del cáncer. Más concretamente, en conjunto con otros fármacos SERMs (tamoxifeno, raloxifeno), la melatonina podría mejorar sus acciones antiestrogénicas [102].

Por otro lado, la melatonina parece promover la formación ósea y prevenir la resorción ósea [103], por lo que administrada junto con fármacos antiaromatasa podría reducir la osteoporosis inducida por ellos, así como potenciar sus efectos al añadir sus propias acciones como agente SERM [104]. Actualmente el tratamiento de elección para combatir la osteoporosis asociada a este tipo de fármacos son los bifosfonatos, cuyo uso ha sido asociado a daño oxidativo, principalmente a nivel gastrointestinal. La melatonina, como el omeprazol, ha demostrado tener efectos protectores contra este daño debido a sus propiedades antioxidantes.

4.5.2. Prevención del riesgo de cáncer de mama asociado a la obesidad

Dado su papel en la regulación del peso corporal, la melatonina podría postularse en un futuro como una nueva herramienta para la terapia contra la obesidad. En este sentido, se ha descrito que los niveles de melatonina circulantes disminuyen en animales obesos, mientras que su administración en modelos de ratas obesas reduce el peso corporal y la grasa visceral, disminuye los niveles plasmáticos de glucosa, leptina, triglicéridos, colesterol total y lipoproteínas de baja densidad (LDL), y aumenta la glutatión peroxidasa y colesterol de alta densidad de lipoproteínas (HDL) [105, 106].

Asimismo, en pacientes con síndrome metabólico, la administración de melatonina (5 mg / día) durante un mes redujo su índice de masa corporal, mejoró su estado antioxidante, disminuyó el LDL sérico y aumentó el HDL [107].

En definitiva, basándose en todos estos hallazgos la melatonina podría ser utilizada como un tratamiento preventivo frente a todas las alteraciones metabólicas relacionadas con la obesidad, que como ya se ha comentado en esta memoria está considerada un factor de riesgo en el desarrollo de cáncer de mama.

4.5.3. Prevención del riesgo de cáncer de mama asociado a la cronodisrupción

Dado que la abolición del trabajo nocturno y la reducción de la iluminación nocturna para prevenir la inhibición de la síntesis de melatonina inducida por la luz nocturna (LAN) parece poco realista, la administración de melatonina exógena podría lograr cierto grado de protección frente a la cronodisrupción inducida por la luz [84]. Puesto que la melanopsina es sensible a la luz en el rango azul (460-480 nm), al filtrar esta banda de la longitud de onda, sería posible evitar o reducir el riesgo de supresión de melatonina por LAN [108]. No es sorprendente que algunas patentes basadas en estas ideas ya hayan sido registradas.

4.6. Uso de melatonina para combatir los efectos secundarios asociados al tratamiento del cáncer de mama

4.6.1. Dermatitis

La dermatitis aguda ocurre hasta en un 90% de los pacientes sometidos a radioterapia, y particularmente entre las mujeres con genotipos que codifican menor protección contra el estrés oxidativo. Actualmente, el tratamiento de la toxicidad cutánea durante la radioterapia incluye emulsiones que contienen corticosteroides o ácido hialurónico. Dado las conocidas propiedades antioxidantes de la melatonina, se ha propuesto su uso para reducir el desarrollo de este tipo de dermatitis. En este sentido, se han realizado algunos estudios in vivo donde no se demostró la eficacia de la aplicación tópica de melatonina para prevenir este tipo de lesiones [109]. Es posible que la concentración utilizada en estos experimentos (2-5%) fuese demasiado baja para resultar eficaz. Las nuevas formulaciones cargadas con melatonina permiten que sus concentraciones oscilen entre el 29 y el 50%, proporcionando un importante aumento del efecto antioxidante de esta indolamina [110].

4.6.2. Depresión

Existe una relación compleja entre la depresión y el cáncer de mama que se ve influenciada por varios factores (**figura 15**):

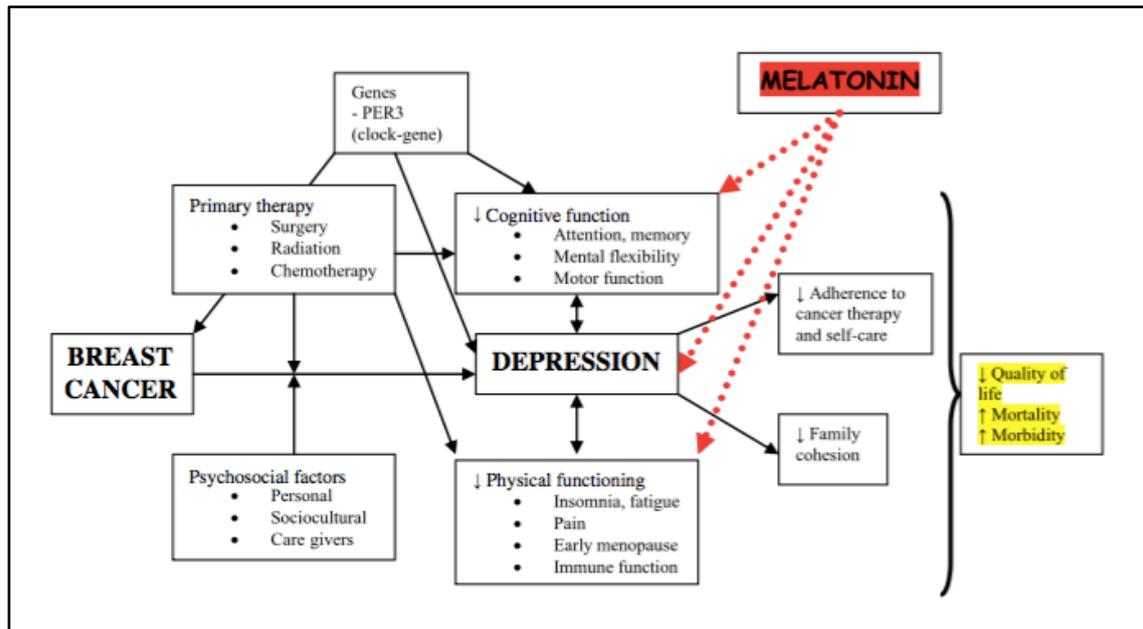


Figura 15: Esquema que muestra las posibles causas que relacionan la aparición de trastornos como la depresión en mujeres diagnosticadas de cáncer de mama.

La tasa global de depresión en pacientes con cáncer de mama es mayor que en otro tipo de tumores, habiéndose demostrado que hasta el 50% de las mujeres diagnosticadas presentan algún tipo de síntoma dentro del primer año de diagnóstico. En general, la depresión concomitante se asocia con una mayor mortalidad y morbilidad [111] junto con una menor adherencia al tratamiento. Una de las causas más probables podría ser su asociación con la menopausia, ya sea fisiológica o inducida por la terapia hormonal [112].

Desde el año 2011 se está realizando un ensayo clínico doble ciego, controlado con placebo (Estudio MELODY), para investigar si la administración de melatonina oral (6 mg/día) a pacientes que iban a ser sometidas a cirugía mejora algunos aspectos tales como depresión y ansiedad. Las primeras conclusiones postulan que la melatonina mejora el riesgo de desarrollar depresión y aumenta tanto la duración como la eficacia del sueño [113].

4.6.3. Trastornos del sueño

Los trastornos del sueño también son un problema frecuente en los pacientes con cáncer, que contribuye a reducir su calidad de vida. La prevalencia estimada de estos problemas entre los pacientes con cáncer de mama está entre el 38% y el 61%. Asimismo, se ha descrito que alrededor del 30% de los pacientes con cáncer de mama toman hipnóticos [114]. Al igual que ocurre con los trastornos depresivos, la etiología de los trastornos del sueño se debe a una combinación de múltiples factores, entre ellos el dolor, los sofocos, la depresión y la ansiedad. En general, los pacientes deprimidos presentan anomalías del sueño con dificultades para dormirse y permanecer dormido, pérdida de onda lenta y

cambios en el sueño REM. En este sentido, es difícil concluir si los trastornos del sueño son un precursor o una secuela de la depresión. Varios estudios en individuos sanos han demostrado una relación causal entre los trastornos del sueño y la depresión [115, 116]. Más específicamente para los pacientes con cáncer de mama, una alteración del ritmo circadiano se ha asociado con depresión, fatiga y dolor [117].

4.6.4. Alteraciones de la función cognitiva

Finalmente, los trastornos de la función cognitiva son un fenómeno predominante en pacientes con cáncer de mama, en parte debidos a factores tales como el propio tratamiento, la cirugía o simplemente la genética [118].

En otros contextos ajenos al cáncer, algunos estudios han demostrado que la melatonina puede atenuar la disfunción cognitiva. Este mecanismo, junto con la mejoría general del sueño, podría ser beneficioso en los trastornos cognitivos en este grupo específico de pacientes. Dado que no existe un conocimiento exhaustivo sobre este tema con respecto al cáncer de mama, es necesario investigar si el desarrollo de problemas cognitivos puede prevenirse mediante el tratamiento con melatonina.

4.7. Conclusiones y futuras consideraciones

En 21 ensayos clínicos recogidos en 7 bases de datos, se concluye que la administración de melatonina a pacientes con tumores sólidos, conjuntamente con distintos tratamientos de quimioterapia, tiene efectos positivos en la respuesta parcial y total, la supervivencia a un año, mejorando además los efectos secundarios como la astenia, leucopenia, náuseas y vómitos, hipotensión y trombocitopenia. Recientemente también en 8 ensayos clínicos RCT (randomized controlled trials) se ha apuntado a la melatonina como terapia adyuvante complementaria, que puede conducir a mejoras sustanciales en la remisión tumoral, la supervivencia a un año y contribuir a mitigar los efectos secundarios consecuencia de la radioterapia y quimioterapia.

A nivel de investigación básica, el interés por las acciones antitumorales de la melatonina es alto, como lo demuestra la publicación de más de 2600 artículos de investigación que profundizan en las acciones oncostáticas de esta hormona. En este sentido, hay numerosas patentes que reclaman su uso como adyuvante durante el tratamiento del cáncer de mama con otros antiestrógenos (Witt-Enderby 2011, WO 046596A2) o con la terapia hormonal sustitutiva (Witt-Enderby 2011, USPTO Application 0028439A1). Asimismo, se ha ensayado recientemente dos agonistas del receptor de melatonina MT₁ / MT₂ de benzofurano (S23219-1 y S23478-1) para su actividad antitumoral *in vitro* e *in vivo*, y se ha determinado que estos compuestos son más eficaces que la melatonina en la inhibición de la proliferación y la promoción de la apoptosis de las células MCF-7, así como en la inducción de la regresión de tumores de rata [119].

No obstante, es importante también señalar que pese a los datos epidemiológicos sólidos que relacionan la aparición de tumores mamarios con alteraciones en la secreción de melatonina, y que demuestran la acción

inhibitoria de esta hormona sobre el crecimiento tumoral, el esfuerzo de los numerosos laboratorios farmacéuticos se ha centrado en el desarrollo de fármacos melatoninérgicos para el tratamiento de patologías circadianas (es decir, trastornos del sueño o trastornos afectivos estacionales). Entre los compuestos melatoninérgicos patentados en los últimos años, los más exitosos han sido la Agomelatina y el Ramelteon, básicamente diseñados para el tratamiento de la depresión y los trastornos del sueño [120].

Dado que tanto la Organización Mundial de la Salud (OMS) como la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) clasifican el trabajo nocturno como un carcinógeno potencial, sería importante realizar una mayor investigación clínica sobre la cronodisrupción y su papel en la etiología del cáncer de mama. Con respecto a la melatonina, deben determinarse factores como la dosis y el momento de administración, así como criterios genómicos con respecto al uso de la melatonina como tratamiento para el cáncer de mama **(figura 16)**.

Asimismo, los hallazgos que postulan a esta hormona como un potente inhibidor de las cascadas de señalización dependientes de estrógenos deben conducir a más estudios clínicos en esta área, para determinar si la melatonina muestra una interacción sinérgica con otros fármacos de la terapia hormonal (tamoxifeno, raloxifeno o fulvestrant) [121].

El resultado de estos esfuerzos podría conducir al uso novedoso de la melatonina en la clínica para la prevención y / o el tratamiento del cáncer de mama.

4.7.1. En la actualidad, ¿para que se usa?

La melatonina está indicada en el tratamiento a corto plazo del insomnio primario en pacientes mayores de 55 años. Se trata de un medicamento con 2 mg de melatonina de liberación prolongada. La dosis recomendada es de un comprimido una vez al día, 1-2 horas antes de acostarse, durante tres semanas. La melatonina ha demostrado superioridad frente a placebo en la mejoría de la calidad del sueño en adultos con insomnio primario. Sin embargo, se trata de mejorías de escasa relevancia clínica y limitadas a un grupo de pacientes muy seleccionado. Por otro lado, en comparación con otros fármacos hipnóticos, no se ha demostrado que tenga una mayor eficacia [122].

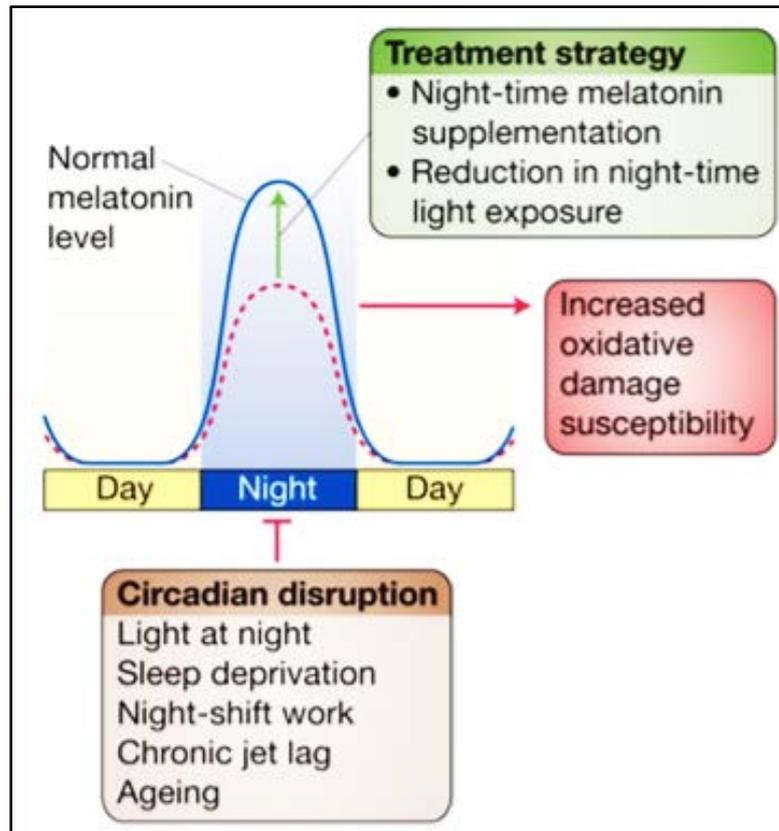


Figura 16: Consideraciones clínicas para el uso de melatonina [123]. Como se muestra en este esquema, los factores que alteran el ritmo circadiano (por ejemplo, la luz durante la noche, la privación del sueño, el trabajo por turnos, el desfase horario crónico y el envejecimiento) pueden aumentar la susceptibilidad al daño oxidativo a través de la supresión de la melatonina nocturna. El objetivo de la terapia, entonces, sería restaurar los niveles de melatonina nocturna de vuelta a la normalidad (línea continua), administrando suplementación nocturna de melatonina (la dosis todavía tiene que ser determinada) y reduciendo la exposición a la luz durante la noche.

5. BIBLIOGRAFÍA

1. Jacques Ferlay, Isabelle Soerjomataram, Rajesh Dikshit, Sultan Eser, Colin Mathers, Marise Rebelo, Donald Maxwell Parkin, David Forman and Freddie Bray. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 *Int. J. Cancer*: 136, E359–E386. 2015.
2. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray, F. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013. Available from: <http://globocan.iarc.fr>, accessed on day/month/year.
3. Leong SPL, Shen Z-Z, Liu T-J, et al. Is breast cancer the same disease in Asian and Western women? *World J Surgery* 2010;4: 2308–24
4. Turnbull C, Rahman N. Genetic Predisposition to Breast Cancer: Past, Present, and Future. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 2008; 9:321–45
5. Philippe M. Campeau · William D. Foulkes, Marc D. Tischkowitz. Hereditary breast cancer: new genetic developments, new therapeutic avenues. *Hum Genet* 2008; 124:31–42
6. Bernstein L. Epidemiology of endocrine-related risk factors for breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2002;7(1):3-15.
7. Straif, K., Baan, R., Grosse, Y., Secretan, B., El Ghissassi, F., Bouvard, V., Altieri, A., Bembrahim-Tallas, L., Cogliano, V. (2007). Carcinogenicity of shiftwork, painting and fire-fighting. *Lancet Oncol*, 8:1065-1066.
8. Steven M. Hill, David E. Blask, Shulin Xiang, Lian Yuan, Lulu Mao, Robert T. Dauchy. Melatonin and Associated Signaling Pathways that Control Normal Breast Epithelium and Breast Cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2011; 16: 235-245.
9. Hill, S.M., Belancio, V.P., Dauchy, R.T., Xiang, S., Brimer, S., Mao, L., Hauch, A., Lundberg, P.W., Summers, W., Yuan, L., Frasch, T., Blask, D.E. (2015). Melatonin: an inhibitor of breast cancer. *Endocr Relat Cancer*, 22:R183-R204.
10. Chlebowski RT, Anderson GL. Menopausal hormone therapy and breast cancer mortality: clinical implications. *Ther Adv Drug Saf.* 2015 ;6(2):45-56.
11. Knower KC, To SQ, Leung Y, Ho S, Clyne CD. Endocrine disruption of the epigenome: a breast cancer link *Endocr Relat Cancer.* 2014; 21(2): T33–T55.
12. Howell A, Clarke RB, Anderson E. Estrogens, Beatson and endocrine therapy. *Endocr Relat Cancer* 1997; 4: 371–80.
13. Felipe Imigo G., Edgardo Mansilla S., Ignacio Delama G., María Teresa Poblete S., Carlos Fonfach Z. Clasificación molecular del cáncer de mama. *Cuad. Cir.* 2011; 25: 67-74.
14. Samuel Cos, Alicia Gonzalez, Virginia Alvarez- Garcia, Carolina Alonso-Gonzalez and Carlos Martinez-Campa. Melatonin and Breast Cancer: Selective Estrogen Enzyme Modulator Actions. *Advances in Cancer Drug Targets.* 2012; 1:207-237.
15. Cos S, González A, Martínez-Campa C, Mediavilla M.D, Alonso-González C, Sánchez Barceló E.J. Estrogen-signaling pathway: A link between breast cancer and melatonin oncostatic actions. Elsevier. *Cancer Detection and Prevention* 2006; 30: 118-128.

- 16.R. Colomer, S. Montero, S. Ropero, JA. Menéndez, H. Cortés Funes, M. Solanas, E. Escrich. El oncogén HER2 como ejemplo del progreso diagnóstico y terapéutico en cáncer de mama. Elsevier. 2001;14:8-19.
- 17.Tan D. X., Manchester L. C., Hardeland R., López-Burillo S., Mayo J. C., Sainz R. M., y Reiter R. J. Melatonin: a hormone, a tissue factor, an autocoid, a paracoid, and an antioxidant vitamin. *J. Pineal Res* 2003. 1: 75-78.
- 18.Lerner AB, Case JD, Takahashi Y. Isolation of melatonin and 5-methoxyindole-3-acetic acid from bovine pineal glands. *J Biol Chem* 1960; 235: 1992-1997.
- 19.Juan M.Guerrero, Antonio Carrillo- Vico y Patricia J.Lardone. La melatonina. *Investigacion y ciencia*. 2007; 1: 30-38.
- 20.Cardinali D.P, Jordá Catalá J, Sánchez-Barceló E. Introducción a la cronobiología: fisiología de los ritmos biológicos, 1994; 3: 48- 49.
- 21.Villar del Fresno, A. M. Melatonina y envejecimiento. *Rev Esp Geriatr Gerontol* 2001;36(5):249-250.
- 22.Von Gall, C., Stehle, J.H. & Weaver, D.R. Mammalian melatonin receptors: molecular biology and signal transduction. *Cell Tissue Res* 2002; 309: 151-162.
- 23.Winczyk K., Pawlikowski M., Guerrero J. M. and Karasek M. Possible involvement of the nuclear RZR/ROR-alpha receptor in the antitumor action of melatonin on murine Colon cancer. *Tumour Biol*. 2002; 23: 298–302.
- 24.Benitez-King G., Huerto-Delgadillo L., y Anton-Tay F. Binding of 3H-melatonin to calmodulin. *Life Sci*. 1993; 3: 201-217.
- 25.Bonnefont-Rousselot D., Collin F. Melatonin: action as antioxidant and potential applications in human disease and aging. *Toxicology* 2010; 278: 55-67.
- 26.Md Jamir Anwar, Bala Yauri Muhammad, Ahmed Abdulsabour Bader, Mahfoudh Abdulghani, Danish Mahmood, Mohammed Haider. An insight into the scientific background and future perspectives for the potential uses of melatonin. 2015; 1:139-152.
- 27.Cardinali DP, Brusco LI, Pérez Lloret S, Furio AM. Melatonin in sleep disorders and jet-lag. *Neuro Endocrinol Lett*. 2002; 23 Suppl 1:9-13.
- 28.Cohen, M., Lippman, M., Chabner, B. Role of pineal gland in aetiology and treatment of breast cancer. *The Lancet*, 1978; 312(8094), 814-816
- 29.Tamarkin L., Danforth D.N., Lichter A., DeMoss E., Cohen M., Chabner B., Lippman M. Decreased nocturnal plasma melatonin peak in patients with estrogen receptor positive breast cancer. *Science*, 1982; 216: 1003-1005
- 30.Coleman M.P., Reiter R.J. Breast cancer, blindness and melatonin. *Eur. J. Cancer* 1992; 28: 501-503
- 31.Verkasalo P.K., Pukkala E., Stevens R.G., Ojamo M., Rudanko S.L. Inverse association between breast cancer incidence and degree of visual impairment in Finland. *Br. J. Cancer* 1999; 80: 1459-1460.
- 32.Mediavilla, M.D, Sánchez Barceló E.J, Tan D.X, Manchester L, Reiter R.J. Basic mechanism involved in the anti-cancer effects of Melatonin. *Curr Med Chem* 2010; 17, 4462-4481.
- 33.Cos S, Sánchez Barceló EJ. Melatonin and mammary pathological growth. *Front Neuroendocrinol* 2000; 21: 133-170.
- 34.Alonso-González C., González A., Cos S., González-González A., Menéndez-Menéndez J., Martínez-Campa C. Melatonin as modulator of radiosensibility and chemosensibility in cancer. 2017. Book Chapter. In Pineal gland:

- research advances and clinical challenges. Ed: Nova Sciences Publishers.
35. Sara Proietti, Alessandra Cucina, Russel J.Reiter, Mariano Bizzarri. Molecular mechanisms of melatonin's inhibitory actions on breast cancers. *Cell. Mol. Life Sci.* 2013; 70: 2139- 2157.
 36. Del Río B., García Pedrero J. M., Martínez-Campa C., Zuazua P., Lazo P. S., Ramos S. Melatonin, an endogenous-specific inhibitor of estrogen receptor alpha via calmodulin. *J. Biol. Chem* 2004; 37: 38294-38302.
 37. García-Pedrero J.M., del Río B., Martínez-Campa C., Muramatsu M., Lazo P.S., Ramos S. Calmodulin is a selective modulator of estrogen receptors. *Mol. Endocrinol.* 2012; 5:947-960.
 38. Dong, C., Yuan, L., Dai, J., Lai, L., Mao, L., Xiang, S., Rowan, B, Hill, S.M. Melatonin inhibits mitogenic cross-talk between retinoic acid-related orphan receptor alpha (RORalpha) and ERalpha in MCF-7 human breast cancer cells. *Steroids* 2010; 75:944-951.
 39. Vriend J, Reiter R.J. Breast cancer cells: Modulation by melatonin and the ubiquitin-proteasome system- A review. *Mol Cel Endocrinol* 2015; 417: 1-9.
 40. Samuel Cos, Carlos Martinez-Campa, Alicia V.Gonzalez, Virginia Alvarez-Garcia, Carolina Alonso-Gonzalez. Melatonin and Aromatase in Breast Cancer. 2014; 1: 54-64.
 41. Sánchez-Barceló E. J., Cos S., Fernández R., y Mediavilla M.D. Melatonin and mammary cancer: a short review. *Endocr. Relat. Cancer* 2003; 10:153-159.
 42. Martínez-Campa C, González A, Mediavilla MD, Alonso-González C, Alvarez-García V, Sánchez-Barceló, EJ, Cos S. Melatonin inhibits aromatase promoter expression by regulating cyclooxygenases expression and activity in breast cancer cells. *Br J Cancer* 2009; 101: 1613-1619.
 43. Cos S., González A. Güzemes A., Mediavilla M. D., Martínez-Campa C., Alonso-González C., Sánchez-Barceló E. J. Melatonin inhibits the growth of DMBA-induced mammary tumors by decreasing the local biosynthesis of estrogens through the modulation of aromatase activity. *Int. J. Cancer* 2006; 18: 274-278.
 44. González A, Martínez-Campa C, Mediavilla MD, Alonso-González C, Alvarez-García V, Sánchez-Barceló EJ, Cos S. Inhibitory effects of melatonin on sulfatase and 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity and expression in glioma cells. *Oncol Rep.* 2010;23(4):1173-8.
 45. Alvarez-García V, González A, Alonso-González C, Martínez-Campa C, Cos S. Melatonin interferes in the desmoplastic reaction in breast cancer by regulating cytokine production. *J Pineal Res* 2012; 52:282-290.
 46. González A, Alvarez-García V, Martínez-Campa C, Alonso-González C, Cos S. Melatonin promotes differentiation of 3T3-L1 fibroblasts. *J Pineal Res* 2012; 52:12-20.
 47. Cos, S., Recio, J., Sánchez-Barceló, E.J. (1996). Modulation of the length of the cell cycle time of MCF-7 human breast cancer cells by melatonin. *Life Sci*, 58:811-816.

48. Cos, S., Fernández, F., Sánchez-Barceló, E.J. Melatonin inhibits DNA synthesis in MCF-7 human breast cancer cells *in vitro*. Life Sci 1996; 58:2447-2453.
49. Mediavilla, M.D., Cos, S., Sánchez-Barceló, E.J. Melatonin increases p53 and p21WAF1 expression in MCF-7 human breast cancer cells *in vitro*. Life Sci, 1999; 65:415-420.
50. Cini, G., Neri, B., Pacini, A., Cesati, V., Sassoli, C., Quattrone, S., D'Apolito, M., Fazio, A., Scapagnini, G., Provenzani, A., Quattrone, A. Antiproliferative activity of melatonin by transcriptional inhibition of cyclin D1 expression: a molecular basis for melatonin-induced oncostatic effects. J Pineal Res 2005; 39:12-20.
51. Blask D.E, Sauer L.A, Dauchy R.T. Melatonin as cronobiotic/anticancer agent: cellular, biochemical and molecular mechanisms of action and their implications for circadian-based cancer therapy. Bentham science, 2002; 2: 113-132.
52. Mediavilla, M.D., Sánchez-Barceló, E.J., Tan, D.X., Manchester, L., Reiter, R.J. Basic mechanisms involved in the anti-cancer effects of melatonin. Curr Med Chem 2010;17: 4462-4481.
53. Moon, I.K., Jarstfer, M.B. The human telomere and its relationship to human disease, therapy, and tissue engineering. Front Biosci 2007; 12:4595-4620.
54. León-Blanco, M.M., Guerrero, J.M., Reiter, R.J., Calvo, J.R., Pozo, D. Melatonin inhibits telomerase activity in the MCF-7 tumor cell line both *in vivo* and *in vitro*. J Pineal Res 2003; 35:204-211.
55. Martínez-Campa, C.M., Alonso-González, C., Mediavilla, M.D., Cos, S., González, A., Sánchez-Barceló, E.J. Melatonin down-regulates hTERT expression induced by either natural estrogens (17beta-estradiol) or metalloestrogens (cadmium) in MCF-7 human breast cancer cells. Cancer Lett 2008; 268:272-277.
56. Cos, S., Fernández, R., Güézmés, A., Sánchez-Barceló, E.J. Influence of melatonin on invasive and metastatic properties of MCF-7 human breast cancer cells. Cancer Res 1998; 58:4383-4390.
57. Ianas O, Olnescu R, Badescu I. Melatonin involvement in oxidative stress. Rom J Endocrinol 1991; 29: 147-53.
58. Marshall KA, Reiter RJ, Poeggeler B, Aruoma OI, Halliwell B. Evaluation of the antioxidant activity of melatonin *in vitro*. Free Radic Biol Med 1996; 21(3): 307-15.
59. Rodríguez, C., Mayo, J.C., Sáinz, R.M., Antolín, I., Herrera, F., Martín, V., Reiter, R.J. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. J Pineal Res 2004; 36:1-9.
60. Reiter, R.J., Tan, D.X., Allegra, M. Melatonin: reducing toxicity and increasing the efficacy of drugs. J Phar Pharmacol 2002; 54:1299-1321.
61. Alvarez-García, V., González, A., Alonso-González, C., Martínez-Campa, C., Cos, S. Regulation of vascular endothelial growth factor by melatonin in human breast cancer cells. J Pineal Res 2013. 54:373-380.
62. Alvarez-García, V., González, A., Alonso-González, C., Martínez-Campa, C., Cos, S. Antiangiogenic effects of melatonin in endothelial cell cultures. Microvasc Res 2013; 87:25-33.
63. Carrillo-Vico, A., Calvo, J.R., Abreu, P., Lardone, P.J., García-Mauriño, S., Reiter, R.J., Guerrero, J.M. Evidence of melatonin synthesis by human lymphocytes and its physiological significance. FASEB J 2004; 18:537-539.

64. Lee, S.E., Kim, S.J., Yoon, H.J., Yu, S.Y., Yang, H., Jeong, S.I., Hwang, S.Y., Park, C.S., Park, Y.S. Genome-wide profiling in melatonin-exposed human breast cancer cell lines identifies differentially methylated genes involved in the anticancer effect of melatonin. *J Pineal Res* 2013; 54:80-88.
65. Erren, T. C., & Reiter, R. J. Defining chronodisruption. *Journal of Pineal Research*, 2009, 46(3), 245-247.
66. Blask, D. E., Brainard, G. C., Dauchy, R. T., Hanifin, J. P., Davidson, L. K., Krause, J. A., & Lynch, D. T. Melatonin-depleted blood from premenopausal women exposed to light at night stimulates growth of human breast cancer xenografts in nude rats. *Cancer Research*, 2005, 65(23), 11174-11184.
67. Cos S., Mediavilla MD., Martínez-Campa C., González A., Alonso-González C., Sánchez-Barceló EJ. Exposure to light-at night increases the growth of DMBA-induced mammary adenocarcinomas in rats. *Cancer Lett* 2006; 235: 266-271.
68. Bauer, S. E., Wagner, S. E., Burch, J., Bayakly, R., & Vena, J. E. A case-referent study: light at night and breast cancer risk in Georgia. *International Journal of Health Geographics*, 2013, 12(1), 1-10.
69. Blask, D.E., Dauchy, R.T., Dauchy, E.M., Mao, L, Hill, S.M., Greene, M.W., Belancio, V.P., Sauer, L.A., Davidson, L. Light exposure at night disrupts host/cancer circadian regulatory dynamics: impact on the Warburg effect, lipid signaling and tumor growth prevention. *Plos One* 2014; 9(8):e102776.
70. Lissoni P, Barni S, Tancini G, Crispino S, Paolorossi F, Lucini V, Mariani M, et al. Clinical study of melatonin in untreatable advanced cancer patients. *Tumori* 73 1987; (5): 475-80.
71. Lissoni, P. Is there a role for melatonin in supportive care?. *Support Care Cancer* 2002; 10(2):110-116.
72. Kim, C, Kim, N, Joo, H, Youm, J.B., Park, W.S., Cuong, D.V., Park, Y.S., Kim, E., Min, C.K., Han, J. Modulation by melatonin of the cardiotoxic and antitumor activities of adriamycin. *J Cardiovasc Pharmacol* 2005; 46(2): 200-210.
73. Lissoni, P., Barni, S., Mandalà, M., Ardizzoia, A., Paolorossi, F., Vaghi, M., Longarini, R., Malugani, F., Tancini, G. Decreased toxicity and increased efficacy of cancer chemotherapy using the pineal hormone melatonin in metastatic solid tumour patients with poor clinical status. *Eur. J. Cancer* 1999; 35(12):1688-1692.
74. Vijayalaxmi, Thomas, C.R. Jr, Reiter, R.J., Herman, T.S. Melatonin: from basic research to cancer treatment clinics. *J Clin Oncol* 2002; 20(10):2575-2601.
75. Lissoni P, Chilelli M, Villa S, Cerizza L, Tancini G. Five years survival in metastatic non-small cell lung cancer patients treated with chemotherapy alone or chemotherapy and melatonin: a randomized trial. *Journal of Pineal Research* 2003; 35 (1): 12-5.
76. Del Fabbro, E., Dev, R., Hui, D., Palmer, L. Bruera. Effects of melatonin on appetite and other symptoms in patients with advanced cancer and cachexia: a double-blind placebo controlled trial. *J Clin Oncol* 2013; 31(10):1271-1276.
77. Berk, L., Berkey, B., Rich, T., Hrushesky, W., Blask, D., Gallagher, M., Kudrimoti, M., McGarry, R.C., Suh, J. Mehta, M. Randomized phase II trial of high-dose melatonin and radiation therapy for RPA class 2 patients with brain metastases (RTOG 0119). *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007; 68(3):852-857.
78. Mills E., Ping Wu P., Seely D., Gordon Guyat G. Melatonin in the treatment of cancer: a systematic review of randomized controlled trials and meta-analysis. *J. Pineal Res.* 2005; 39:360–366.

79. Lissoni P, Malugani F, Bukovec R et al. Reduction of cisplatin-induced anemia by the pineal indole 5-methoxytryptamine in metastatic lung cancer patients. *Neuroendocrinol Lett* 2003; 24:83-85.
80. Lissoni P, Meregalli S, Nosetto L et al. Increased survival time in brain glioblastomas by a radioneuroendocrine strategy with radiotherapy plus melatonin compared to radiotherapy alone. *Oncology* 1996; 53:15-19.
81. Lissoni P, Mandala M, Brivio F. Abrogation of the negative influence of opioids on IL-2 immunotherapy of renal cell cancer by melatonin. *Eur Urol* 2000; 38:115-118.
82. Lissoni P, Meregalli S, Fossati V et al. A randomized study of immunotherapy with low-dose subcutaneous interleukin-2 plus melatonin vs chemotherapy with cisplatin and etoposide as first-line therapy for advanced non-small cell lung cancer. *Tumori* 1994; 80:464-467.
83. Lissoni P, Paolorossi F, Tancini G et al. A phase II study of tamoxifen plus melatonin in metastatic solid tumor patients. *Br J Cancer* 1996; 74: 1466-1468.
84. Emilio J. Sanchez-Barcelo, Maria D. Mediavilla Aguado and Samuel Cos Corral. Melatonin and Melatonergic Drugs for Therapeutic Use in Breast Cancer. V. Srinivasan et al. 2014; 11:171-181.
85. Devriendt D, Kinnaert Y, Journe F, Seo HS, Van Houtte P, Leclercq G. Effect of Low Dose Irradiation on Estrogen Receptor Level in MCF-7 Breast Cancer Cells. *Int. J. Cancer (Radiat. Oncol. Invest)* 2001; 96, 32–40.
86. Alonso Gonzalez C, Gonzalez A, Martinez-Campa C, Menendez-Menendez J et al. Melatonin enhancement of the radiosensitivity of human breast cancer cells in associated with the modulation of proteins involved in estrogen biosynthesis. *Cancer Lett.* 2016 1;370(1): 145-52.
87. Shizari A, Mihandoost E, Mohseni M et al. Radio-protective effects of melatonin against irradiation-induced oxidative damage in rat peripheral blood. *Phys Med* 2011; [Epub ahead of print].
88. Shizari A, Ghobadi G, Ghazi-Khansari M. A radiobiological review on melatonin: a novel radioprotector. *J Radiat Res (Tokyo)* 2007; 48:263-272.
89. Lawenda BD, Kelly KM, Ladas EJ et al. Should supplemental antioxidant administration be avoided during chemotherapy and radiation therapy? *J Natl Cancer Inst* 2008; 100:773-83.
90. Bruna Victorasso Jardim-Perassi, Ali S. Arbab, Livia Carvalho Ferreira, Thaiz Ferraz Borin et al. Effect of Melatonin on Tumor Growth and Angiogenesis in Xenograft Model of Breast Cancer. *Plos One* 2014; 9(1): e85311.
91. Renu Gahlaut, Aneliese Bennett, Hiba Fatayer, Barbara J. Dall, Nisha Sharma. Effect of neoadjuvant chemotherapy on breast cancer phenotype, ER/PR and HER2 expression – Implications for the practising oncologist. *European Journal of Cancer.* 2016; 60:40-48.
92. Huai-Qiang Ju, Hao Li, Tian Tian, Yun-Xin Lu, Long Bai et al. Melatonin overcomes gemcitabine resistance in pancreatic ductal adenocarcinoma by abrogating nuclear factor- κ B activation. *Journal of Pineal Research.* 2015; 60:27-38.
93. Mohamed Naguib, Vijaya Gottumukkala and Peter A. Goldstein. Melatonin and anesthesia: a clinical perspective. *Journal of Pineal Research,* 2007; 42:12-21.

94. Miyong Yun, Eun-Ok Kim, Duckgwee Lee, Ji-Hyun Kim, Jaekwang Kim. Melatonin Sensitizes H1975 Non-Small- Cell Lung Cancer Cells Harboring a T790M-Targeted Epidermal Growth Factor Receptor Mutation to the Tyrosine Kinase Inhibitor Gefitinib. *Cell Physiol Biochem* 2014;34:865-872.
95. Plaimee N. Weerapreeyakul S. Barusrux. Melatonin potentiates cisplatin-induced apoptosis and cell cycle arrest in human lung adenocarcinoma cells. *Cell Proliferation*, 2015; 48(1):67-77.
96. Pariente R. Melatonin Sensitizes Human Cervical Cancer HeLa Cells to Cisplatin-Induced Cytotoxicity and Apoptosis: Effects on Oxidative Stress and DNA Fragmentation. *J Pineal Res*, 2015; 60 (1), 55-64.
97. Uguz AC et al. Melatonin potentiates chemotherapy-induced cytotoxicity and apoptosis in rat pancreatic tumor cells. *Journal of Pineal Research*, 2012; 53(1):91-8.
98. Kosar PA et al. *The Journal of Membrane Biology*, 2016; 249(1-2):129-40.
99. Hara M, Yoshida M, Nishijima H, Yokosuka M, Iigo M et al. Melatonin, a pineal secretory product with antioxidant properties, protects against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *J Pineal Res*. 2001; 30:129-138.
100. Nahleh Z, Pruemmer J, Lafollette J, Sweany S. Melatonin, a promising role in taxane-related neuropathy. *Clin Med Insights Oncol*. 2010; 4:35-41.
101. Mediavilla MD, Sanchez-Barcelo EJ, Tan DX, Manchester L, Reiter RJ. Basic mechanisms involved in the anti-cancer effects of melatonin. *Curr Med Chem*. 2010;17(36):4462-81.
102. Cos S, Gonzalez A, Martinez-Campa C, Mediavilla MD, Alonso-Gonzalez C, Sanchez-Barcelo EJ. Melatonin as a selective estrogen enzyme modulator. *Curr Cancer Drug Targets*. 2008; 8:691-702.
103. Emilio J Sanchez-Barcelo, Maria D Mediavilla, Carolina Alonso Gonzalez and Russel J Reiter. Melatonin uses in oncology: breast cancer prevention and reduction of the side effects of chemotherapy and radiation. *Expert Opin Investing Drugs*. 2012; 21:819-31.
104. Cos S, Gonzalez A, Güzemes A, Mediavilla MD, Martinez-Campa C, Alonso-Gonzalez C et al. Melatonin inhibits the growth of DMBA-induced mammary tumors by decreasing the local biosynthesis of estrogens through the modulation of aromatase activity. *Int J Cancer*. 2006; 118:274-8.
105. Nduhurabandi F, du Toit EF, Lochner A. Melatonin and the metabolic syndrome: a tool for effective therapy in obesity-associated abnormalities? *Acta Physiol (Oxf)*. 2012; [Epub ahead of print].
106. Tan DX, Manchester LC, Fuentes-Broto L, et al. Significance and application of melatonin in the regulation of Brown adipose tissue metabolism: relation to human obesity. *Obes Rev*. 2011; 12:167-88.
107. Kozirog M, Poliwczkak AR, Duchnowicz P, et al. Melatonin treatment improves blood pressure, lipid profile, and parameters of oxidative stress in patients with metabolic syndrome. *J Pineal Res* 2011; 50:261-6.
108. West KE, Jablonksi MR, Warfield B, Cecil KS, James M, et al. Blue light from light-emitting diodes elicits a dose-dependent suppression of melatonin in humans. *J Appl Physiol*. 2011; 110:619-26.
109. Vasin MV, Ushakov IB, Kovtun VI, et al. Comparative effectiveness of antioxidant melatonin and radioprotectors indralin and phenylephrine in local radiation injuries. *Radiats Biol Radioecol*. 2004; 44:68-71.

- 110.Schaffazick SR, Pohlmann AR, Guterres SS. Nanocapsules, nanoemulsion and nanodispersion containing melatonin: preparation, characterization and stability evaluation. *Pharmazie*. 2007; 62:354-60.
- 111.Hjerl K, Andersen EW, Keiding N, et al. Depression as a prognostic factor for breast cancer mortality. *Psychosomatics*. 2003; 44:24-30.
- 112.Fann JR, Thomas-Rich AM, Katon WJ, et al. Major depression after breast cancer: a review of epidemiology and treatment. *Gen Hosp Psychiatry*. 2008; 30:112-26.
- 113.Hansen MV. Chronobiology, cognitive function and depressive symptoms in surgical patients. *Dan Med J*. 2014; 61(9):B4914.
- 114.Davidson JR, MacLean AW, Brundage MD, et al. Sleep disturbance in cancer patients. *Soc Sci Med*. 2002; 54:1309-21.
- 115.Breslau N, Roth T, Rosenthal L, et al. Sleep disturbance and psychiatric disorders: a longitudinal epidemiological study of young adults. *Biol Psychiatry*. 1996; 39:411-18.
- 116.Livingston G,Blizard B, Mann A. Does sleep disturbance predict depression in elderly people? A study in inner London. *Br J Gen Pract*. 1993; 43:445-8.
- 117.Ancoli-Israel S, Moore PJ, Jones V. The relationship between fatigue and sleep in cancer patients: a review. *Eur J Cancer Care (Engl)*. 2001; 10:245-55.
- 118.Jim HS, Donovan KA, Small BJ, et al. Cognitive functioning in breast cancer survivors: a controlled comparison. *Cancer*. 2009; 115:1776-63.
- 119.Sanchez-Barcelo EJ, Martinez-Campa CM, Mediavilla MD, Gonzalez A, Alonso-Gonzalez C, Cos S. Melatonin and melatonergic drugs as therapeutic agents: Ramelteon and Agomelatine, the two most promising melatonin receptor agonists. *Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov*. 2007; 1:142-51.
- 120.Witt-Enderby PA, et al. Therapeutic treatments potentially mediated by melatonin receptors: potential clinical uses in the prevention of osteoporosis, cancer and as an adjuvant therapy. *Journal of Pineal Research*. 2006; 41:297:305.
- 121.Aust S, et al. Biotransformation of melatonin in human breast cancer cell lines: role of sulfotransferase 1A1. *Journal of Pineal Research*. 2005; 39:276-282.
- 122.Wade AG, Ford I, Crawford G, McMahon AD, Nir T, et al. Efficacy of prolonged release melatonin in insomnia patients aged 55-80 years: quality of sleep and next-day alertness outcomes. *Current Medical Research & Opinion*. 2007; 23:2597-605.
- 123.Stephen G.Grant, Melissa A.Melan, Jean J.Latimer and Paula A. Melatonin and breast cancer: cellular mechanisms, clinical studies and future perspectives. *Expert Rev Mol Med*. 2015; 11:12-21.