



PAPEL DE LA MELATONINA EN LOS PROCESOS TUMORALES

ROLE OF MELATONIN IN TUMORAL PROCESSES

AUTOR: FRANCISCO GONZÁLEZ URBISTONDO
DIRECTOR: SAMUEL COS CORRAL

TRABAJO DE FIN DE GRADO

GRADO DE MEDICINA, JUNIO DE 2019. SANTANDER

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA. FACULTAD DE MEDICINA

Agradecimientos:

A la Universidad de Cantabria.

Al doctor Samuel Cos, al que recordaré como un gran profesor.

A mi familia.

ÍNDICE

RESUMEN. Página 5.

OBJETIVOS Y METODOLOGÍA. Página 7.

INTRODUCCIÓN. Página 9.

- ❖ Síntesis, secreción, transporte y metabolismo
- ❖ Regulación de la síntesis
- ❖ Mecanismos de acción de la melatonina
- ❖ Acciones de la melatonina

ACCIONES DE LA MELATONINA SOBRE DISTINTOS TIPOS DE TUMORES. Página 20.

- ❖ Cáncer de mama
- ❖ Cáncer de ovario y endometrio
- ❖ Cáncer de próstata
- ❖ Hepatocarcinoma y otros tumores digestivos
- ❖ Melanoma

MECANISMOS DE LAS ACCIONES ANTITUMORALES DE LA MELATONINA. Página 26.

- ❖ Acciones antiestrogénicas
 - Regulación de receptores estrogénicos
 - Regulación de la síntesis local de estrógenos
- ❖ Regulación del ciclo celular
 - Proliferación
 - Diferenciación
 - Apoptosis
- ❖ Inhibición de la actividad la telomerasa
- ❖ Inhibición de metástasis
- ❖ Acciones antioxidantes
- ❖ Acciones antiangiogénicas
- ❖ Acciones inmunomoduladoras
- ❖ Factores epigenéticos
- ❖ Prevención de la disrupción del ritmo circadiano de la melatonina
- ❖ Transporte y metabolismo de ácidos grasos

APLICACIONES DE LA MELATONINA EN LA PRÁCTICA CLÍNICA. Página 46.

CONCLUSIONES. Página 49.

BIBLIOGRAFÍA. Página 51.

RESUMEN

La melatonina es una molécula multifuncional sintetizada en la glándula pineal. La función fundamental de esta molécula es la sincronización de los ritmos circadianos con la luz ambiental. Sin embargo, en las últimas décadas se han atribuido nuevas funciones a la melatonina. Entre ellas, sin duda destaca su acción antitumoral, que se desarrolla por distintos mecanismos, entre los que están: 1) acciones antiestrogénicas, dado que regula la expresión y transactivación del receptor estrogénico y de las enzimas que intervienen en la síntesis local de estrógenos, siendo este mecanismo de gran importancia en la fisiopatología de los tumores hormono-dependientes; 2) regulación del ciclo celular, dado que disminuye la proliferación celular e induce la diferenciación celular y la apoptosis; 3) inhibición de la actividad de la telomerasa; 4) inhibición de metástasis dado que, entre otras acciones, favorece la expresión de moléculas de adhesión como E-cadherina y β 1-integrina 5) Acción antioxidante dado que neutraliza radicales libres; 6) acciones antiangiogénicas; 7) acciones inmunomoduladoras, dado que induce la producción de citokinas en linfocitos y monocitos; 8) factores epigenéticos; 9) prevención de la disrupción de los ritmos circadianos y 10) regulación del transporte y metabolismo de los ácidos grasos, dado que inhibe la captación de ácidos grasos por los transportadores de membrana.

Sin embargo, a pesar de las aparentes ventajas de los preparados farmacológicos a base de melatonina (fácil posología, baja toxicidad, etc.) existen muy pocos ensayos clínicos que valoren su eficacia como agente antitumoral.

Melatonin is a multitask molecule synthesized in the pineal gland. The main function of this molecule is the synchronization of circadian rhythms with daylight. However, new functions have been attributed to melatonin in the last decades. Among them, the most notable is the antitumoral function, which is carried out by different mechanisms: 1) antiestrogenic action, as it regulates the expression and transactivation of the estrogenic receptor, and of the enzymes which regulate the local synthesis of estrogens, which is specially important to hormone-dependent tumors 2) regulation of the cell cycle, as it diminishes cell proliferation while increasing cell differentiation and apoptosis, 3) inhibition of telomerase activity 4) inhibition of metastasis as it favors the expression of adhesion molecules such as E-cadherine and B1-integrine, 5) antioxidante functions as it neutralizes free radicals, 6) antiangiogenic actions 7) immunomodulator functions as it induces the production of cytokines in monocytes and lymphocytes, 8) epigenetic factors, 9) prevention of circadian disruption and 10) regulation of transport and metabolism of fatty acids as it inhibits the uptake of fatty acids by membrane transporters.

However, in spite of the apparent advantages of drugs based on melatonin (easy administration, low toxicity, etc), there are few clinical trials that assess the efficacy of melatonin as an antitumoral agent.

OBJETIVOS Y METODOLOGÍA

OBJETIVOS

- El objetivo fundamental del presente trabajo es describir las acciones antitumorales de la melatonina. Para ello, en primer lugar, realizaremos una breve introducción de la fisiología de la glándula pineal y de su principal producto de secreción, la melatonina.
- A continuación, realizaremos una revisión de la literatura publicada hasta hoy día, con el objetivo de describir los principales efectos de la melatonina sobre diferentes tipos de tumores.
- Finalmente, revisaremos los principales mecanismos de acción de la melatonina a través de los cuales ejerce sus efectos oncostáticos y las posibles aplicaciones futuras de la melatonina en la práctica clínica.

METODOLOGÍA

Para el desarrollo del trabajo hemos realizado una revisión bibliográfica del tema, utilizando diferentes bases de datos (PubMed, Medline, etc), artículos publicados en revistas científicas de alto impacto (*Cancer Research, Journal of Pineal Research, Annals of the New York Academy of Sciences, Journal of Neuroendocrinology, etc*), así como libros y fuentes de soporte digital.

En la búsqueda de bibliografía se han empleado las palabras clave: melatonina, cáncer, cáncer de mama, estrógenos, vía de señalización, apoptosis.

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

La glándula pineal es una estructura anatómica conocida desde la antigüedad. Las primeras descripciones anatómicas de la epífisis se remontan al siglo II a.C, pero el descubrimiento de su función fisiológica tendría que esperar hasta 1958. Es decir, estamos hablando de una glándula que ha estado en perpetuo estudio desde hace más de 2000 años.

La glándula pineal entró en la historia gracias a Herófilo de Calcedonia (siglo III a.C) quien la vinculó a la regulación del “flujo de pensamiento”. Galeno (siglo II a.C) describió su anatomía y la otorgó un nombre, *konarium* (cono de piña), acepción que ha perdurado hasta la actualidad en su traducción latina (*pineal*). Durante siglos, el conocimiento heredado de los autores antiguos fue todo lo que supo la Humanidad sobre la epífisis, hasta la llegada del Renacimiento. Los científicos renacentistas profundizaron en el conocimiento de sus propiedades anatómicas (Andrés Vesalio aportó una descripción anatómica muy precisa en su obra *De Humani Corporis Fabrica* de 1543) y fisiológicas (Descartes pensaba que se trataba del correlato físico de alma y que formaba parte del sistema nervioso como centro de la percepción del entorno). Con este planteamiento se llegó al siglo XIX, cuando se abordó la glándula pineal de los mamíferos desde diferentes perspectivas (anatómica, histológica y embriológica), lo que permitió esclarecer la función de una glándula que, hasta entonces, había sido considerada por pensadores y filósofos como centro de misteriosas funciones metafísicas, el llamado “tercer ojo”. Este cambio de paradigma permitió que, en el siglo XX, por fin se descubriera la función de la epífisis. Existen dos fechas clave que explican la evolución del conocimiento sobre la epífisis en el siglo XX. En 1917 se descubrió que el extracto de las pineales de las vacas aclaraba la piel de las ranas, dado que hasta entonces se pensaba que la glándula pineal era un “remanente vestigial” de un órgano más grande. Este conocimiento propició que el dermatólogo estadounidense Aaron B. Lerner y varios colegas de la Universidad de Yale, con la esperanza de que una sustancia procedente de la pineal pudiera ser útil en el tratamiento de las enfermedades de la piel, aislaran una sustancia de estructura N-acetil-5-metoxitriptamina, a la que darían el nombre de melatonina (Lerner et al, 1958) en 1958. Aunque no demostró ser eficaz, permitió ahondar en el conocimiento de un campo de reciente aparición: la cronobiología. De esta forma, se descubrió la función de la melatonina como regulador de los ritmos circadianos.

En 1929, Georgiou estableció la primera relación entre la glándula pineal y la aparición de tumores malignos (Georgiou et al, 1929). Desde este momento, numerosos estudios comenzaron a describir distintas propiedades antitumorales. Estos conocimientos se pusieron en común en 1977, en la ciudad de Viena, en una primera reunión internacional que tuvo como eje central la acción de la glándula pineal en el control neurohormonal del cáncer, encuentro organizado por Vera Lapin. A partir de este momento, se produjo un importante aumento en la investigación y realización de estudios sobre el papel de la glándula pineal en la etiología y patogénesis de las enfermedades neoplásicas, que ha demostrado las propiedades oncostáticas de la melatonina sobre diversos tumores, especialmente hormono-dependientes.

En resumen, los hallazgos que comenzaron gracias a los sabios griegos de la antigüedad nos han permitido conocer de forma muy precisa la anatomía, embriología e histología de la epífisis, y de forma algo menos precisa su fisiología.

Embriológicamente, la epífisis es una estructura encefálica derivada de la porción caudal del diéncéfalo dorsal embrionario, el cual posteriormente conformará el epitálamo. Se desarrolla en el segundo mes de vida intrauterina como una evaginación de techo del diéncéfalo (Roa y Del Sol, 2004).

Histológicamente, está constituida por pinealocitos (80%) y por elementos vasculares, nerviosos y células de la glía (Cardinali et al, 1994).

Anatómicamente, la glándula pineal es una estructura de forma cónica, que mide 5-8 mm de longitud por 3-5 mm de ancho, y pesa 100-200 mg. Está orientada anteroposteriormente reposando sobre el surco que separa los colículos superiores con la pared posterior del tercer ventrículo y encontrándose unido a las comisuras habenuar y posterior por una formación pedicular llamada tallo pineal, bañada por líquido cerebroespinal y cubierta por piamadre, la cual forma una cápsula desde la que se proyectan tabiques por las cuales ingresan gran cantidad de vasos sanguíneos (no en vano, representa el segundo órgano receptor de flujo sanguíneo en términos cuantitativos). La glándula pineal es inervada por fibras simpáticas originadas en el sistema nervioso central. El ganglio cervical superior es la principal aferencia postganglionar (Roa y Del Sol, 2004).

Desde el punto de vista fisiológico, juega un importante papel endocrino siendo responsable de coordinar los ritmos circadianos a través de la producción de melatonina. Además, presenta importantes efectos oncostáticos, geroprotectores y antioxidantes.

SÍNTESIS Y SU REGULACIÓN, SECRECIÓN Y TRANSPORTE DE MELATONINA

Su síntesis tiene lugar en dos localizaciones:

	MELATONINA PINEAL	MELATONINA EXTRA-PINEAL
PRODUCCIÓN	Glándula pineal	Retina Tracto G-I Piel Médula ósea
ENZIMA LIMITANTE DEL PROCESO	NAT (regulada por ciclos luz/oscuridad)	NAT (regulada por actividad metabólica)
FUNCIÓN	Sistémica: Cronobiótica	Local: Antioxidante
LIBERACIÓN A LA SANGRE	Si (la melatonina en sangre es el principal índice de síntesis)	No (los niveles en tejidos son mayores que en sangre)

GLÁNDULA PINEAL

Es el lugar de síntesis principal. En la glándula pineal, la melatonina se sintetiza a partir de triptófano en un conjunto de reacciones encadenadas, cuya enzima limitante es NAT (serotonina N-acetiltransferasa), que cataliza el paso de serotonina a N-acetilserotonina, el precursor directo de la melatonina (Figura 1) (Cardinali et al, 1994).

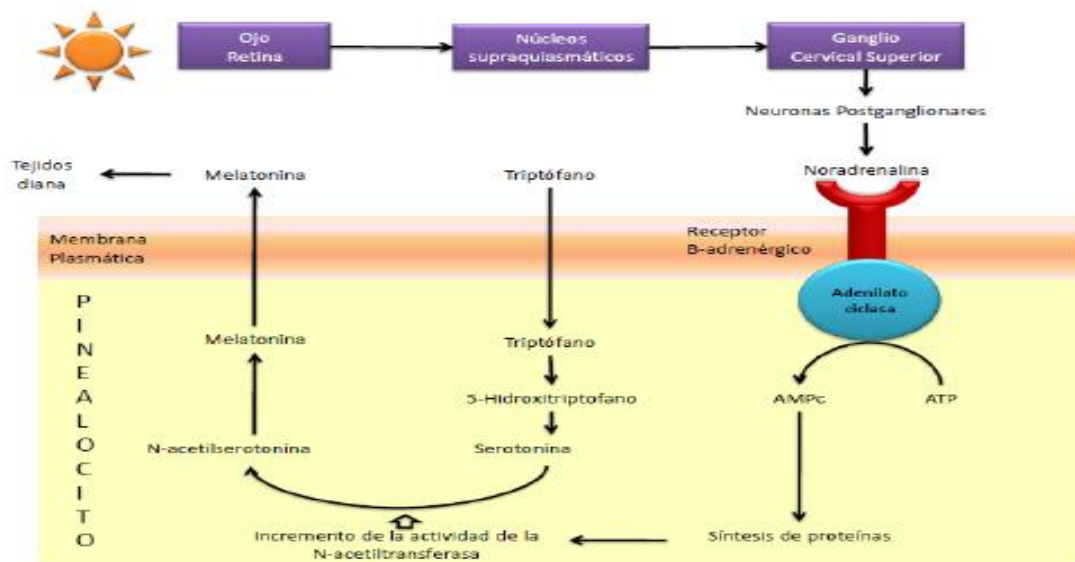


Figura 1. Síntesis y regulación de la síntesis de melatonina (Cardinali et al, 1994).

Esta melatonina difunde rápidamente hacia la circulación sistémica, cerebral y LCR, ya que es muy lipofílica. En el plasma, puede ir unida a la albúmina (70%) o en forma libre (30%, pasando a la saliva y reflejando los niveles sanguíneos).

REGULACIÓN DE LA SÍNTESIS DE MELATONINA EN LA GLÁNDULA PINEAL

La síntesis y secreción de melatonina está estimulada por la oscuridad e inhibida por la luz. Cerca del 80% de la melatonina se sintetiza de noche, con concentraciones séricas que varían entre 80-120 pg/ml. Durante el día, las concentraciones séricas son bajas, entre 10-20 pg/ml (Tordjman et al, 2017).

La regulación de la síntesis de la melatonina sigue este circuito (Figura 2) (Cos y Sánchez-Barceló, 2000):

- Retina
- Tracto retinohipotalámico
- Núcleos supraquiasmáticos (hipotálamo)
- Núcleo paraventricular (hipotálamo)
- Médula espinal torácica: Neuronas pre-ganglionares
- Ganglio cervical superior: Neuronas post-ganglionares
- Glándula pineal.

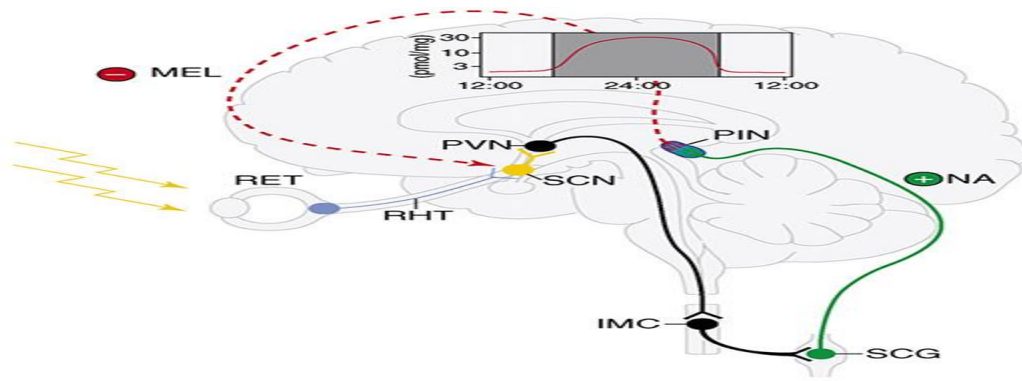


Figura 2. Circuito nervioso de regulación de la síntesis de serotonina. IIMEL.

Los tres grandes actores involucrados en el circuito son los siguientes, cada uno de los cuales participa en 1 de los 3 pasos esenciales del proceso:

- Retina y tracto retinohipotalámico: Paso 1
- Núcleos supraquiasmáticos: Paso 2
- Ganglio cervical superior: Paso 3
- Glándula pineal: Paso 4

PASO 1: RETINA Y TRACTO RETINOHIPOTALÁMICO

Los fotorreceptores de la retina pueden transmitir potenciales de acción al NSQ o no transmitirlos.

- Durante el día: No transmiten PA.
- Durante la noche: Transmiten PA que se dirigen a través del tracto retinohipotalámico hasta los NSQ. Se pone en marcha el paso 2.

PASO 2: NÚCLEOS SUPRAQUIASMÁTICOS DEL HIPOTÁLAMO

Los núcleos supraquiasmáticos del hipotálamo son el marcapasos central del organismo, encargados de regular los ritmos circadianos (Gillete y Tischkau, 1999).

Para poder regular los ritmos circadianos, el reloj o marcapasos del NSQ debe estar sincronizado con el fotoperíodo, y esta sincronización se lleva a cabo mediante la transmisión de señales por la retina a través del tracto retinohipotalámico. De esta manera, los NSQ saben si nos encontramos durante el día o durante la noche.

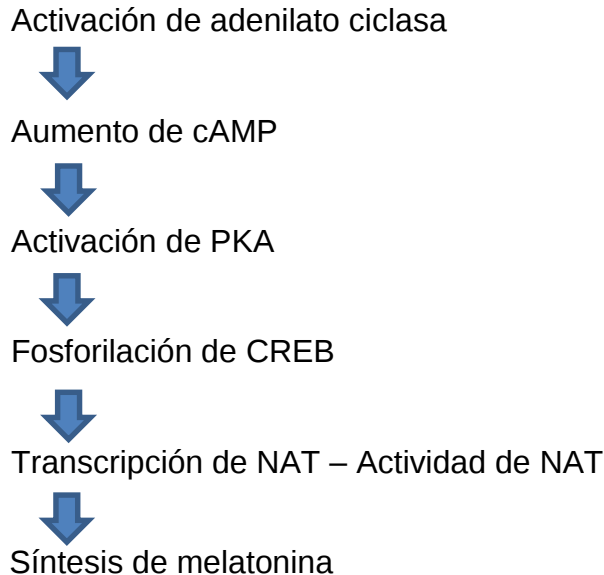
Durante la noche, la retina produce PA que se transmiten a través del tracto retinohipotalámico al NSQ. Entonces, el NSQ activa una vía de señalización polisínáptica que informa al ganglio cervical superior de que debe producir noradrenalina.

PASO 3: GANGLIO CERVICAL SUPERIOR

Cuando recibe la señal del ganglio cervical superior, las neuronas postganglionares de este comienzan a producir noradrenalina.

PASO 4: GLÁNDULA PINEAL

Los pinealocitos de la glándula pineal captan esta NA a través de sus receptores adrenérgicos de membrana (alfa y beta). La activación de estos receptores desata una cascada de señalización intracelular (Klein et al, 1991).



La producción de melatonina sigue un ritmo circadiano, alcanza niveles máximos en plasma durante la noche (a las 2-3 de la madrugada, los niveles son de 200 pg/ml) y niveles mínimos durante el día (20 pg/ml aproximadamente).

EXTRAPINEAL (Acuña-Castroviejo et al, 2014).

La melatonina también se sintetiza en órganos extra-pineales: retina, tracto gastrointestinal, piel, médula ósea y linfocitos, entre otros. Este descubrimiento fue posible gracias a tres hallazgos en estos tejidos:

- Enzimas clave de la síntesis de la melatonina.
- Receptores de melatonina.
- Evidencias de las acciones anti-inflamatorias y anti-oxidantes de la melatonina.

De esta forma, ¿cuál puede ser el papel de esta melatonina extra-pineal? El papel viene explicado por tres diferencias entre la síntesis pineal y extra-pineal.

- Regulación por ciclos luz/oscuridad: Presente en la síntesis pineal y ausente en extra-pineal
- Liberación de melatonina a la sangre: La melatonina de síntesis pineal se libera a la sangre y la de síntesis extrapineal no.
- Niveles de melatonina en tejidos extrapineales vs. Niveles de melatonina en plasma: La melatonina está presente en prácticamente todos los fluidos corporales, donde se encuentra a niveles superiores que en sangre.

Esto sugiere que la función de la melatonina extra-pineal es actuar a nivel local, protegiendo a las células del daño oxidativo, dado que la producción de ROS

(reactive oxygen species) y RNS (reactive nitrogen species) tiene lugar durante las fases de actividad metabólica (cuando el consumo de oxígeno es máximo), que en animales diurnos no tienen lugar durante la noche (cuando se produce el pico de melatonina pineal).

METABOLISMO DE MELATONINA

El nivel de melatonina en sangre está regulado por el equilibrio entre su síntesis en la glándula pineal (en respuesta a luz/oscuridad) y su degradación periférica, fundamentalmente en el hígado (Kelleher et al. 2014). La degradación de melatonina se realiza por tres mecanismos (SM Hill et al. 2015)

- **HEPÁTICA (95%);** Producción de 6-hidroximetatonina, que tras conjugarse con sulfato o glucurónido se elimina por la orina (Venegas-Maldonado, 2013)
- **CEREBRAL Y OTROS TEJIDOS PERIFÉRICOS (RETINA, PIEL) (5%):**
 - Vía indólica: 5-metoxindolacético o 5-metoxitriptofol.
 - Vía kinúrica: Producción de AFMK y AMK, que son metabolitos activos. Estos metabolitos tienen una acción antioxidante muy importante en la cascada antioxidante de la melatonina, tal y como se explicará en el apartado “acciones de la melatonina”.

MECANISMOS DE ACCIÓN DE LA MELATONINA

En la actualidad, se han descrito 5 mecanismos de acción de la melatonina (Figura 3) (Venegas Maldonado, 2013):

- Unión a receptores de membrana.
- Unión a receptores nucleares.
- Mecanismos de acción independientes de receptores.
 - Interacción con proteínas citosólicas.
 - Interacción con mitocondria.
 - Acción directa.

A través de estos receptores, esta hormona evita la apoptosis, la producción de radicales libres (ROS/RNS) y la pérdida de ATP.

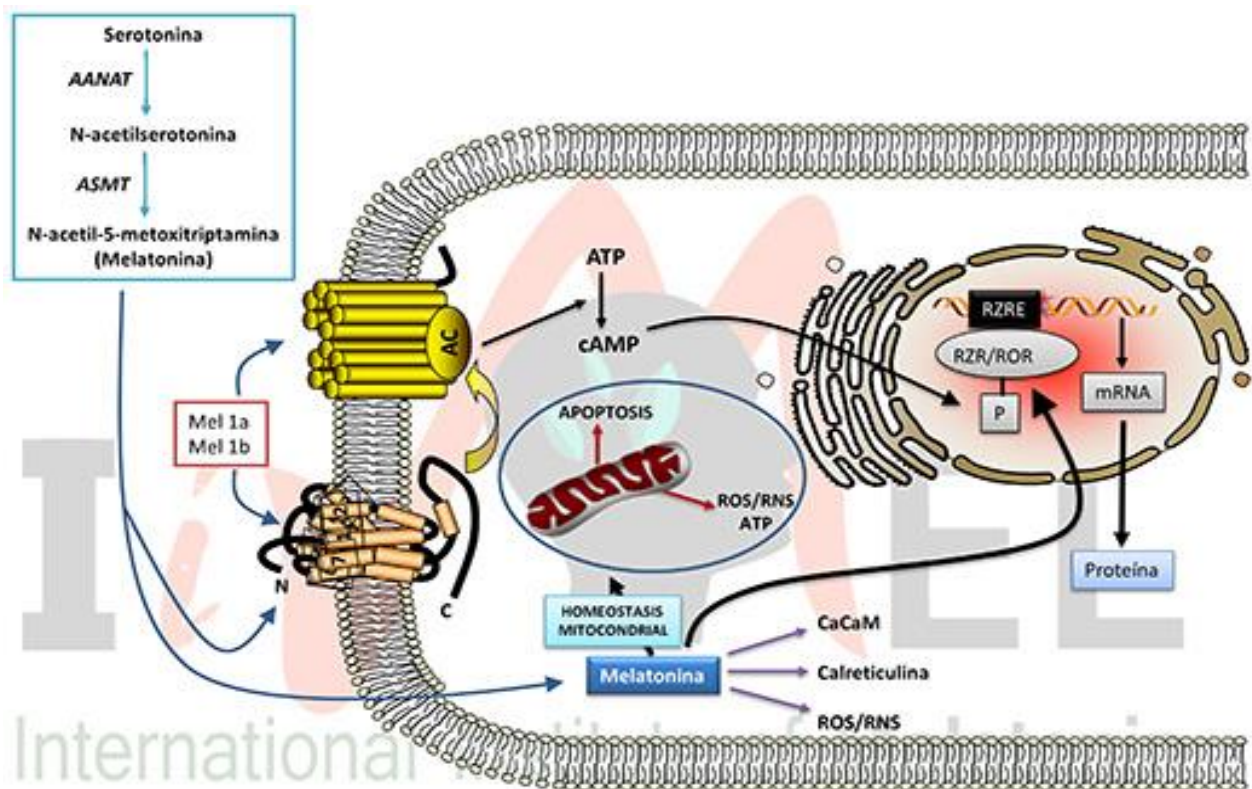


Figura 3: Mecanismos de acción de la melatonina. IIMEL.

UNIÓN A RECEPTORES DE MEMBRANA (RECEPTORES ACOPLADOS A PROTEÍNAS G)

Los receptores de membrana de melatonina están acoplados a proteínas G, fundamentalmente inhibitorias. A través de estos receptores, la melatonina ejerce modulación sobre diversos segundos mensajeros, entre los que destaca el AMPc (Figura 4).

	MEL-1	MEL-2	MEL-3
MECANISMO INTRACELULAR	Proteína G (G1,G0) Inhibición de adenilato ciclasa	Ca ²⁺ GMPc AMPc Prostaglandinas	PI turnover (Gq/11)
LOCALIZACIÓN	Núcleo supraquiasmático Pars reticularis Hipotálamo Riñón	Hipotálamo Corteza cerebral Cerebelo Hipocampo	Glándula pineal Riñón
ESPECIFICIDAD	Melatonina 6-OH melatonina N-acetilserotonina	Melatonina N-acetilserotonina 6OH melatonina Serotonina	Melatonina N-acetilserotonina Serotonina 6-OH melatonina

Figura 4. Receptores de melatonina: tipos, mecanismo intracelular, localización y especificidad (Cardinali et al, 1994).

UNIÓN A RECEPTORES NUCLEARES (ROR)

Los RORs/RZS (RAR-related orphan receptores) son receptores nucleares que funcionan como factores de transcripción intranucleares. Existen tres tipos: alfa, beta y gamma. Se ha sugerido que la melatonina parece ser el ligando natural de estos receptores, a través de ellos se sugiere que la melatonina ejerce funciones de inmunomodulación a través de la 5-lipooxigenasa (Venegas-Maldonado, 2012). Sin embargo, existen controversias a este respecto, con autores afirmando que la melatonina no es un ligando para estos receptores. (Slominski et al. 2016) y otros autores describen que la melatonina tiene un papel modulador de los mismos (Hill et al, 2015).

INTERACCIÓN CON PROTEÍNAS CITOSÓLICAS

La melatonina puede interactuar con diversas proteínas citosólicas. Las más destacadas son:

CALMODULINA (Benitez-King et al, 1993)

La calmodulina es una proteína que se une al calcio. La interacción calmodulina-calcitonina tiene interés como mecanismo de regulación del citoesqueleto (este punto se desarrollará en el apartado “metástasis”) y en el metabolismo del calcio.

CALRETICULINA (Macias et al, 2003)

La calreticulina, al igual que la calmodulina, también es una proteína que se une al calcio. La interacción calreticulina-calmodulina se asocia a la regulación de la acción de diferentes hormonas en el núcleo celular.

TUBULINA (Cardinali y Freire, 1975)

La interacción tubulina-calmodulina se asocia a la regulación del citoesqueleto, aunque todavía las consecuencias de esta interacción son inciertas.

INTERACCIÓN CON LA MITOCONDRIA

La melatonina ha sido propuesta como mantenedora de la homeostasis mitocondrial (Figura 5). Se ha propuesto que la melatonina realizaría las siguientes acciones:

- Aumento de la función mitocondrial
- Reducción de radicales libres
- Aumento del ATP
- Neutralización de la apoptosis en células normales.

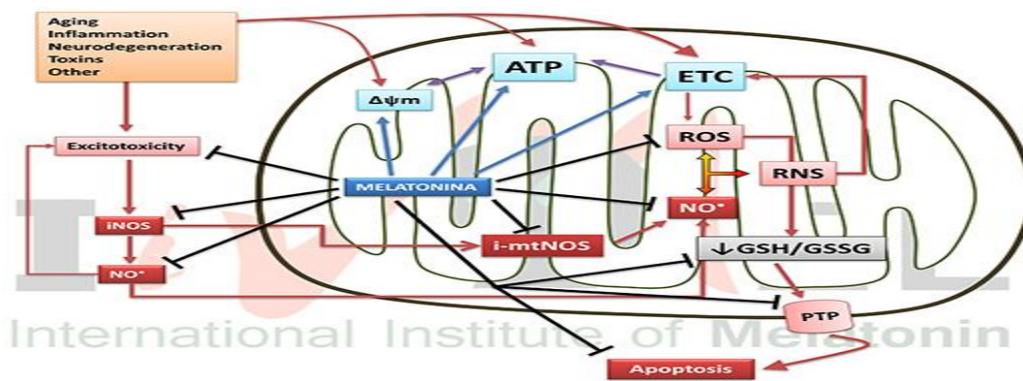


Figura 5. Acciones de la melatonina en la mitocondria. IIMEL

FUNCIONES DE LA MELATONINA

RITMICIDAD CIRCADIANA

La melatonina regula los ritmos circadianos. Los ritmos circadianos son oscilaciones de las variables biológicas en intervalos regulares de tiempo, en torno a las 24 horas. Aunque están regulados internamente (endógenos, mediante un reloj biológico), pueden ser modificados de forma externa (se pueden sincronizar de acuerdo a estímulos externos denominados “Zeitgeber”, este fenómeno explica el fenómeno de jet-lag en personas que viajan a través de distintas zonas horarias, sintomatología que se experimenta hasta que el ritmo circadiano se sincroniza en base al ciclo de luz/oscuridad de la zona horaria en la que se encuentra).

La regulación interna de los ritmos circadianos es realizada por un reloj biológico, que se encuentra en los núcleos supraquiasmáticos (NSQ) del hipotálamo. Los NSQ generan ritmos circadianos cercanos a las 24 horas, independientemente de las señales externas.

La regulación externa-sincronización de los ritmos circadianos se realiza a cabo fundamentalmente a través de señales luminosas, que informan al NSQ del momento del ciclo luz/oscuridad y permiten su sincronización. En mamíferos, la melatonina es esencial para la transducción de la información del medio externo en respuestas fisiológicas. De esta forma, la luz inhibe la producción de melatonina mientras que la oscuridad la estimula.

INMUNOLÓGICA (Carrillo-Vico et al, 2005).

La melatonina tiene efectos inmunomoduladores directos en animales y humanos. La inmunomodulación puede ser directa o indirecta, y afecta tanto a la inmunidad innata como adaptativa

Inmunidad innata: Las células fundamentales de la inmunidad innata son los macrófagos, los granulocitos (neutrófilos, basófilos y eosinófilos) y las células NK. Se ha comprobado que la melatonina estimula la producción de células progenitoras de macrófagos y granulocitos (GM-CFU). Además, se sabe que la administración exógena de melatonina aumenta la actividad de las células NK.

Inmunidad adaptativa: El papel estimulador de la melatonina se ejerce principalmente en las células T helper y precursores de linfocitos T. El

mecanismo fundamental es la producción de citocinas, fundamentalmente interleucinas (IL-2, IL-6 e IL-12) e interferón-gamma.

MODULADOR DEL EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISIS-GÓNADAS

El eje hipotálamo-hipófisis-gónadas regula la función reproductora.

En el hipotálamo, se produce GnRH. En la hipófisis, la GnRH favorece la producción de LH y FSH. En las gónadas, las hormonas hipofisarias favorecen la producción de esteroides sexuales, que por retroalimentación negativa inhiben la síntesis de GnRH en el hipotálamo.

La melatonina parece tener un papel importante en la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas. Realiza dos funciones:

- Hipotálamo: Inhibe la producción de GnRH.
- Hipófisis: Inhibe la producción de LH/FSH.

A través de estos mecanismos, la melatonina parece jugar un papel importante en la regulación de la fisiología reproductiva en los animales de reproducción estacional (Rojanski et al, 2000) y en el inicio de la pubertad. La melatonina puede ejercer un efecto inhibitor sobre el inicio de la pubertad (Vanecek, 1998).

ANTI-OXIDANTE: Este apartado se estudiará a continuación.

ANTITUMORAL: Este apartado se estudiará a continuación.

ACCIONES DE LA MELATONINA SOBRE DISTINTOS TIPOS DE TUMORES

Los efectos de la melatonina han sido estudiados en distintos tipos de tumores: cáncer de próstata, sarcomas, cáncer colorrectal, hepatocarcinomas, melanoma, tumores neurales, carcinomas de laringe, carcinomas cutáneos, cáncer de ovarios, cáncer de mama y cáncer cervical.

La mayoría de los estudios se han desarrollado *in vitro*, en líneas celulares derivadas de tumores humanos (la mayoría) y de tumores murinos.

La conclusión general es que la melatonina inhibe la proliferación celular e induce la apoptosis en la mayoría de líneas celulares tumorales, y reduce la carcinogénesis y el crecimiento tumoral en tumores murinos químicamente inducidos (Mediavilla et al, 2010). Estos efectos son más pronunciados en tumores hormono-dependientes, particularmente en tumores mamarios y prostáticos (Kubatka et al, 2018).

MELATONINA Y CÁNCER DE MAMA

El cáncer de mama es una proliferación maligna de las células epiteliales que revisten los conductos o lobulillos mamarios. Es uno de los cánceres más frecuentes y más letales entre las mujeres (constituye una de las principales causas de muerte en mujeres de 40-55 años).

Las acciones oncostáticas de la melatonina han sido estudiadas en tumores mamarios hormono-dependientes. En ellos, se ha señalado que:

❖ *In vivo*:

- La melatonina previene la génesis y el crecimiento de tumores mamarios en roedores, ya sean tumores espontáneos o químicamente inducidos.
- La supresión de la función pineal (ya sea quirúrgicamente o fisiológicamente mediante alteraciones en los ciclos luz/oscuridad) incrementa la incidencia, número y tamaño tumoral, al tiempo que reduce la latencia tumoral. Además, en pacientes con cáncer de mama, se han encontrado niveles bajos de melatonina circulante y desincronización del reloj circadiano. Esto sugiere una relación entre la función pineal y el proceso carcinogénico.

❖ *In vitro*: La melatonina, a dosis fisiológicas, ha demostrado acciones antiproliferativas y anti-invasivas.

Las acciones citostáticas y citotóxicas dependen de los receptores de melatonina (MT1 y MT2), fundamentalmente de MT1:

- ❖ Las acciones citostáticas de la melatonina parecen estar mediadas por su interacción con la vía de señalización estrógeno/ER- α (aunque últimamente se han descritos rutas ER- α independientes). En las células de cáncer mamario ER- α positivas, la melatonina suprime la expresión de mRNA de ER-alfa y su actividad transcripcional a través del receptor MT1 (efecto SERM).

- ❖ Las acciones citotóxicas de la melatonina son mediadas por gran cantidad de rutas, que incluyen p53, p73, TGFB1, NRs como RAR α , RXR α y VDR, e incluso genes reloj como PER2 (Hill et al, 2015).

Sin embargo, existen distintas acciones que son independientes los receptores MT1 y MT2 y que se ejercen mediante diferentes mecanismos:

- ❖ Activación de la superfamilia de receptores nucleares.
- ❖ Interferencia con las enzimas que metabolizan los estrógenos (efecto SEEM).
- ❖ Regulación de la expresión de genes reloj.
- ❖ Supresión del metabolismo aerobio: Efecto Warburg.

Además, la melatonina también posee propiedades anti-invasivas y anti-metastásicas que incluyen distintas rutas de señalización: incluyendo la inhibición de p38 MAPK y de EMT (epitelial-mesenchymal transition).

De esta forma, las acciones oncostáticas de la melatonina sobre el cáncer de mama hormono-dependiente están relacionadas con sus propiedades anti-estrógenicas, ya que los estrógenos y sus receptores juegan un papel fundamental en la progresión del cáncer de mama (Cos y Sánchez Barceló, 2000) dado que niveles elevados de estrógenos durante tiempos prolongados estimulan el crecimiento de las células mamarias.

Como hemos explicado anteriormente, la melatonina es una molécula con una doble función SERM Y SEEM:

La función SEEM consiste en la regulación de las rutas de síntesis y transformación de estrógenos mediante el efecto anti 17-HSD tipo 1, anti estrógeno sulfatasa y antiaromatasa (Figura 6) (Álvarez García et al, 2013; Knowler et al, 2012; Martínez-Campa et al, 2009). Además, la melatonina inhibe la producción hipofisaria de gonodotropinas y la producción gonadal de estrógenos.

La función SERM consiste en la modulación de la actividad de los receptores estrogénicos, fundamentalmente reduciendo la expresión del RE- α e inhibiendo la unión del complejo ER-RE-CAM a los EREs del DNA (Proietti et al, 2013). Esta acción SERM prácticamente se circunscribe al receptor RE- α . De esta forma, la sensibilidad de las células MCF-7 a la melatonina depende del ratio RE- α /RE- β .

- Ratios elevados: Sobreexpresión de RE- α . MCF-7 muy sensibles a la melatonina.
- Ratios disminuidos: Sobreexpresión de RE- β . MCF-7 poco sensibles a la melatonina.

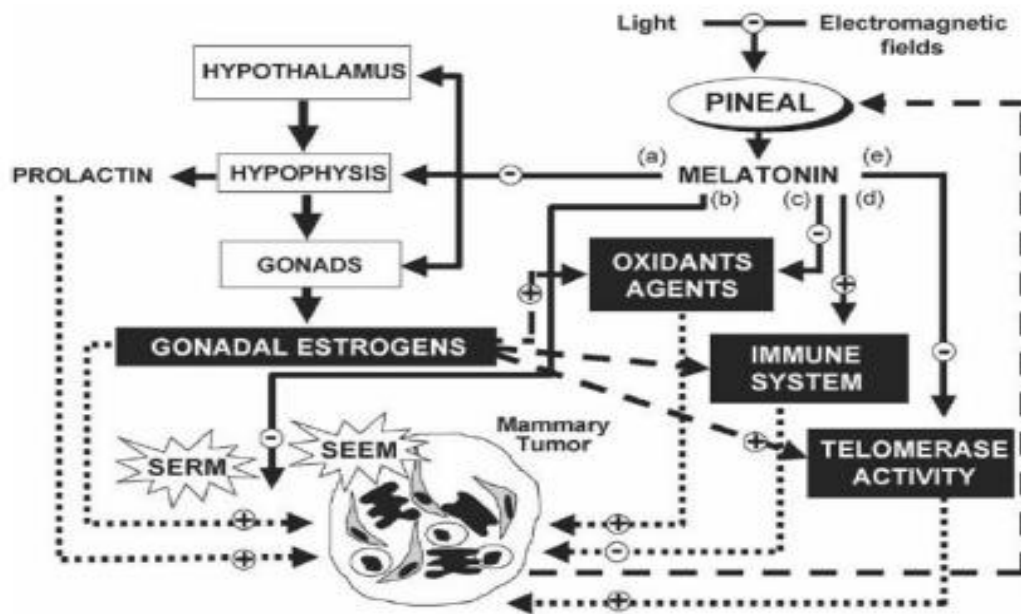


Figura 6. Mecanismos mediante los cuales la melatonina regula la carcinogénesis mamaria (Cos et al, 2006)

La melatonina está relacionada con el cáncer de mama en dos formas:

- ❖ Etiológicamente: Los niveles elevados de melatonina circulante parecen funcionar como un factor protector contra el cáncer de mama. Por eso, la supresión quirúrgica o funcional (mediante regímenes distintos de luz/oscuridad según el estudio de Kubatka et al, 2018) de la función de la glándula pineal favorece la aparición de cáncer de mama.
- ❖ Clínicamente: La utilización de melatonina ha demostrado un efecto antioncostático tanto *in vivo* como *in vitro*.

Sin embargo, a pesar de este conocimiento, el número de ensayos clínicos que evalúan la eficacia de la melatonina en el tratamiento del cáncer de mama son sorprendentemente escasos (Cos y Sánchez-Barceló, 2000).

MELATONINA EN CÁNCER DE OVARIO Y ENDOMETRIO

El carcinoma endometrial es la neoplasia maligna más frecuente del tracto genital femenino. Aunque la patogénesis de esta enfermedad no se conoce bien, se cree que la deficiencia de melatonina podría ser un posible factor etiológico debido a sus efectos antiestrogénicos (Srinivasan et al, 2008). Se ha descrito que existen niveles reducidos de secreción de melatonina en algunos pacientes con cáncer de endometrio (Karasek et al, 2000).

In vitro, estudios sobre células de cáncer ovárico humano (BG-1) han demostrado que la melatonina (a concentraciones de 10^{-5} a 10^{-10} M) reduce la proliferación de estas células en más del 20% (Petranka et al, 1999).

En estudios *in vivo*, se encontró una respuesta no homogénea a melatonina en distintas cultivos celulares de carcinoma ovárico. En el ensayo

realizado por Bartsch y colaboradores se compararon 7 muestras de tumor ovárico en pacientes de diferentes edades, con diferentes TNMs y presencia de receptores de estrógenos y progesterona. En base a sus resultados, Barstch y colaboradores concluyeron que no existe correlación obvia entre sensibilidad tumoral a la melatonina y estadio del tumor o presencia de receptores (Barstch et al, 2000).

Además, los estudios llevados a cabo en pacientes con carcinoma ovárico no mostraron diferencias significativas en los niveles de secreción de melatonina en comparación con los controles (Bartsch et al, 2000).

MELATONINA Y CÁNCER DE PRÓSTATA

La melatonina reduce la proliferación de células tumorales prostáticas y detiene la progresión del ciclo celular tanto en células andrógeno-dependientes LNCaP como en células andrógeno independientes PC3 (Sainz et al, 2005).

La melatonina y su análogo (2-iodomelatonina) atenúan la proliferación de células LNCaP andrógeno dependientes mediante la disminución de la expresión de EGF (Srinivasar et al, 2008).

MELATONINA Y CARCINOMA COLORRECTAL

El interés sobre el posible papel de la melatonina en el cáncer colorrectal aumentó a raíz de la identificación de receptores de melatonina en muestras de colon de pacientes con carcinoma colorrectal.

Se ha sugerido que las concentraciones altas de melatonina en el colon estimulan el sistema inmunitario, mejoran la función antioxidante y neutralizadora de radicales libres, elevan los niveles de absorción y metabolismo de ácidos grasos y, por tanto, ejercen un papel protector frente al desarrollo de carcinoma colorrectal.

El efecto de la melatonina sobre la inhibición del crecimiento del carcinoma colorrectal se estudió en células CT-26, en las cuales se encontró que el mecanismo antiproliferativo debía obedecer a un mecanismo no hormono-dependiente, ya que no existían receptores para los estrógenos en esta línea celular (Farriol et al 2000). Más recientemente se ha demostrado que el efecto de la melatonina sobre el cáncer de colon está mediado por receptores MT2 y receptores RZR/RORa (Srinivasar et al, 2008).

Además, se cree que la melatonina puede jugar un papel importante en mejorar el efecto de la quimioterapia en el carcinoma colorrectal, como tratamiento coadyuvante, ya que la coadministración de melatonina (20 mg/día a la hora de acostarse) con CPT-11 es más efectivo en el control de la enfermedad que la administración de CPT-11 en monoterapia (Cerea et al, 2003).

MELATONINA EN EL HEPATOCARCINOMA Y OTROS CÁNCERES DEL TRACTO DIGESTIVO

Se ha demostrado que el mecanismo principal mediante el cual niveles plasmáticos fisiológicos y farmacológicos de melatonina inhiben el crecimiento del hepatoma de rata 7288CTC es por medio de la supresión de la absorción de ácido linoleico y su metabolismo a 13-HODE, mediada por receptores de melatonina (Blask et al, 1999).

MELATONINA EN EL MELANOMA

La acción de la melatonina sobre el melanoma y otros cánceres epiteliales es doble:

Por un lado, presenta una acción radioprotectora, que obedece fundamentalmente a su capacidad de neutralizar los radicales libres y de estimular la actividad de enzimas anti-oxidantes (Srinivasar et al. 2008).

Por otro lado, presenta acción oncostática directa. Esta acción se ha demostrado en células B16 de melanoma murino. En concreto, parece que la acción oncostática es dosis dependiente, con concentraciones elevadas inhibiendo más que concentraciones reducidas (Yerneni et al, 2003). De esta forma:

- ❖ Niveles bajos (2 a 77 pg/cell): La melatonina no afecta de forma significativa el recuento celular.
- ❖ Niveles intermedios (1936/2003 pg/cell): La melatonina tiene un efecto inhibitorio moderado sobre >50% en comparación con los controles.
- ❖ Niveles elevados (7743 a 19356 pg/cell): La melatonina causa una caída de >50% en el recuento celular.

MECANISMOS DE LAS ACCIONES ANTITUMORALES DE LA MELATONINA

Como he desarrollado anteriormente, la función de la glándula pineal perteneció al terreno de la metafísica más que al de la biología hasta el siglo XX. No fue hasta 1958 cuando Aaron B.Lerner y sus compañeros describieron la producción de melatonina por parte de la epítesis. En 1977, la reunión internacional en Viena coordinada por Vera Lapin supuso una puesta en común del conocimiento que había hasta el momento sobre la relación del cáncer con la glándula pineal, que había comenzado en 1929 con el trabajo de Georgiou (Georgiou et al, 1929) que estableció por vez primera una relación entre disfunción de la glándula pineal y desarrollo de tumores malignos.

Desde entonces, el conocimiento de las acciones antitumorales de la melatonina no ha hecho sino aumentar. A pesar de la gran variedad de investigaciones, todas ellas comparten algo: el hecho de que la melatonina tiene propiedades oncostáticas en múltiples tumores, especialmente aquellos denominados hormonodependientes.

ACCIONES ANTIESTROGÉNICAS DE LA MELATONINA

Los estrógenos son hormonas sexuales esteroideas (derivadas de colesterol). Los principales estrógenos son estradiol (E2), estrona y estriol.

En las mujeres, son producidos por los ovarios y los tejidos periféricos.

- ❖ Mujeres premenopáusicas: 70% de producción ovárica y 30% de producción en tejidos periféricos (conversión de andrógenos en estrógenos por la aromatasa).
- ❖ Mujeres postmenopáusicas:
 - Tejidos periféricos: Producción en la grasa subcutánea (conversión de andrógenos suprarrenales en estrógenos por la aromatasa). La grasa subcutánea es responsable de la mayor parte de la síntesis de estrógeno circulante, con una clara correlación entre estradiol plasmático e índice de masa corporal. En menor medida, existe producción suprarrenal de testosterona y androstenediona.
 - Ovarios: Existe una pequeña contribución ovárica (testosterona ovárica)

En los varones, son producidos en los testículos, concretamente en las células de Leydig. En ellas, los andrógenos se biotransforman en estrógenos gracias a la enzima aromatasa.

Los efectos de los estrógenos en sus órganos blanco se deben a la “señalización estrogénica”, que es una cadena de eventos celulares iniciada con los RE (receptores de estrógenos). Estos RE son factores de transcripción. La unión estrógeno-RE posibilita la translocación de los RE al núcleo y la interacción con EREs (elementos de respuesta a estrógenos), lo que permite la activación de transcripción de diferentes genes.

REGULACIÓN DE LA SÍNTESIS DE ESTRÓGENOS

La melatonina se comporta con un SEEM (Selective Estrogen Enzyme Modulators). Los SEEM son compuestos que interactúan con la biosíntesis/transformación de estrógenos.

La biosíntesis de esteroides se regula mediante tres tipos de enzimas (Figura 7):

- Esteroides andrógenos y esteroides estrógenos: Los andrógenos se sintetizan a partir de colesterol. Los estrógenos se sintetizan a partir de andrógenos, gracias a la enzima aromatasa.
- Esteroides oxidativos (de baja actividad) y reducidos (de alta actividad):
 - Esteroides oxidativos: Enzima 17B-HSD tipo 2.
 - Esteroides reducidos: Son la testosterona (andrógeno) y el estradiol (estrógeno). Enzima 17B-HSD tipo 1.
- Estrógenos y estrógenos sulfatos (que son inactivos).
 - Estrógenos: Estrógeno-sulfatasa (STS).
 - Estrógenos sulfato (inactivos): Estrógenos sulfo-transferasa (ETS).

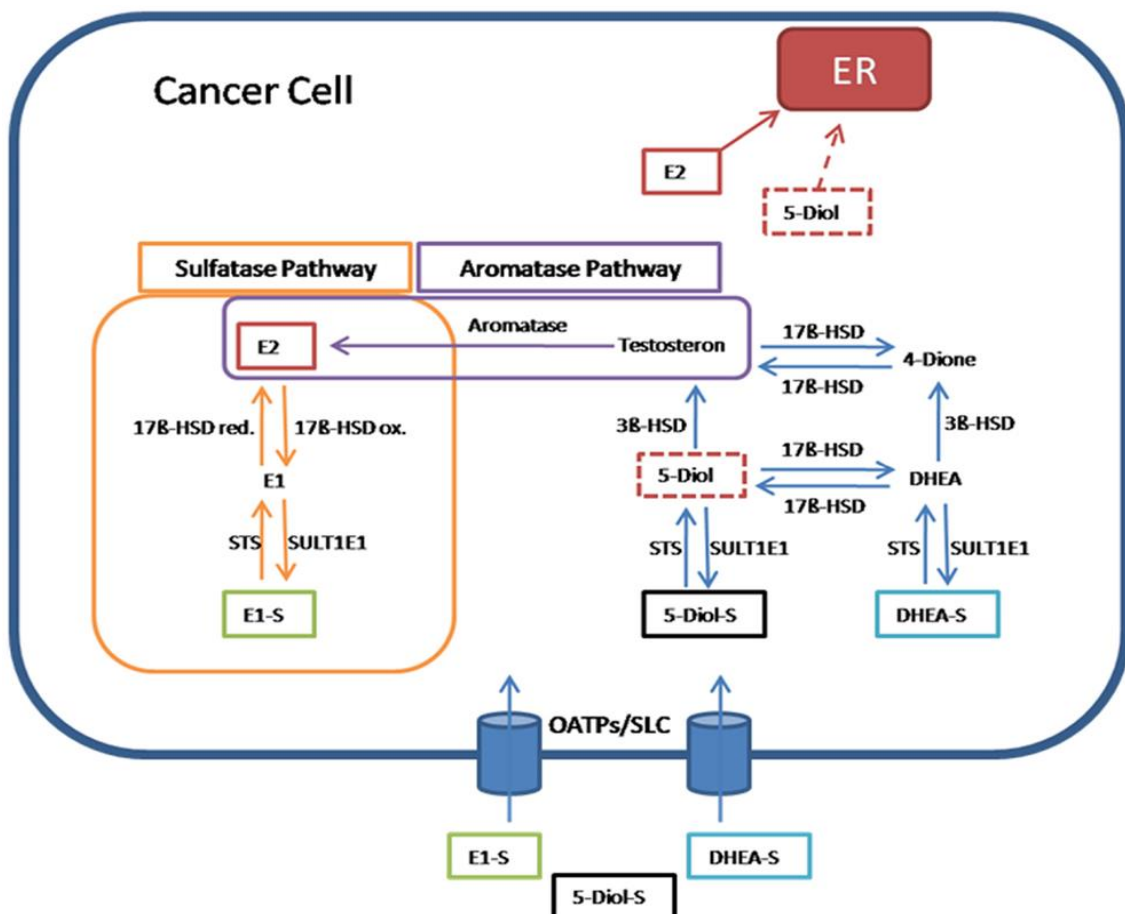


Figura 7. Biosíntesis de estrógenos (Mungenast y Thalhammer, 2014)

Para ilustrar como funciona este complejo proceso, está el ejemplo del adenocarcinoma mamario. En el adenocarcinoma mamario, la producción local de estrógenos está desviada hacia la producción de E2-testosterona. Esto se debe a la mayor actividad de 17 β -HSD1 (formas reducidas de alta actividad), de STS (estrógenos no sulfatados) y de aromatasa (estradiol a partir de testosterona).

La melatonina ejerce sus efectos en este proceso tanto *in vivo* como *in vitro*.

IN VITRO (CÉLULAS MCF-7)

La melatonina, a concentraciones fisiológicas, inhibe la expresión de las enzimas involucradas en la producción de estrógenos biológicamente activos (Sánchez-Barceló et al, 2005). La melatonina inhibe la actividad y la expresión de:

- ❖ Aromatasa: Cataboliza el paso de andrógenos a estrógenos. Al mismo tiempo, la melatonina potencia los efectos de compuestos anti-aromatasa, como la aminoglutetimida.
- ❖ 17-HSD tipo 1: Cataboliza el paso de formas oxidadas (menos activas) a formas reducidas (más activas).
- ❖ Estrógeno-sulfatasa (ETS): Cataboliza el paso de estrógeno-sulfatos (inactivos) a estrógenos biológicamente activos. Al mismo tiempo, estimula la actividad de la EST (estrógeno sulfo-transferasa) que realiza el proceso contrario.

IN VIVO

En tumores mamarios estrógeno-dependientes químicamente inducidos (mediante DMBA) de animales ovariectomizados y tratados con testosterona, la melatonina inhibió el crecimiento tumoral dependiente de la transformación de andrógenos en estrógenos por la aromatasa (Cos et al. 2006).

REGULACIÓN DE LA ACTIVACIÓN DEL RECEPTOR DE ESTRÓGENOS

La melatonina se comporta como un SERM (Selective Estrogen Receptor Modulator). Los SERM son moléculas que se unen al RE y tienen acciones antiestrogénicas o proestrogénicas en función del órgano.

La melatonina ejerce su acción antiestrogénica mediante la reducción de la actividad transcripcional mediada por E2. Sin embargo, a diferencia de los SERM (que se unen a ER), la melatonina actúa de forma indirecta. Reduce la expresión del RE-alfa e inhibe la unión del complejo ER-RE a los EREs del DNA.

Se han sugerido varios mecanismos para explicar este efecto (Mediavilla et al, 2010):

- Interacción con receptores de membrana: Fundamentalmente MT1. MT1 está acoplado a proteínas G y produce la inhibición de la adenilato ciclasa, lo cual reduce la actividad de cAMP/PKA. La reducción de cAMP

mediada por melatonina podría ser uno de los mecanismos involucrados en la disminución de la actividad transcripcional mediada por E2. En células MCF-7, se ha descrito que E2 induce el aumento de la producción de cAMP. A su vez, las concentraciones intracelulares elevadas de cAMP aumentan la transcripción de ER-alfa. La melatonina reduce cAMP y por tanto la transcripción de ER-alfa.

- Interacción con receptores nucleares: La melatonina también regula la transactivación de los receptores nucleares de la familia de esteroides/retinoides, incluyendo RAR-alfa (Mediavilla et al, 2010).
- Interacción con proteínas citosólicas: La calmodulina es un modulador de la actividad transcripcional de ER-alfa; ya que facilita la unión de E2-ERalfa a ERE. La melatonina inactiva la calmodulina (se une a CaM e inactiva el complejo CaM/calcio²⁺) y por tanto interfiere con este proceso.

La melatonina presenta acción SERM. Esta acción SERM prácticamente se circunscribe al receptor RE-alfa. De esta forma, la sensibilidad de las células MCF-7 a la melatonina depende del ratio REalfa/REbeta.

- Ratios elevados: Sobreexpresión de RE-alfa. MCF-7 muy sensibles a la melatonina.
- Ratios disminuidos: Sobreexpresión de RE-beta. MCF-7 poco sensibles a la melatonina.

En conclusión, la melatonina es la única molécula que comparte acciones SERM (preferentemente anti-ERalfa) y SEEM. Este doble mecanismo de acción explica las propiedades oncostáticas de la melatonina en los tumores estrógeno-dependientes, y confiere a la melatonina ventajas potenciales en el tratamiento de estas neoplasias.

MODULACIÓN DEL CICLO CELULAR, DIFERENCIACIÓN Y APOPTOSIS

MODULACIÓN DEL CICLO CELULAR

El ciclo celular eucariota es el proceso de duplicación del DNA celular y posterior repartición entre dos células hijas genéticamente idénticas. El ciclo celular eucariota consta de 4 fases: fase G1, fase S, fase G2 y fase M (Figura 8).

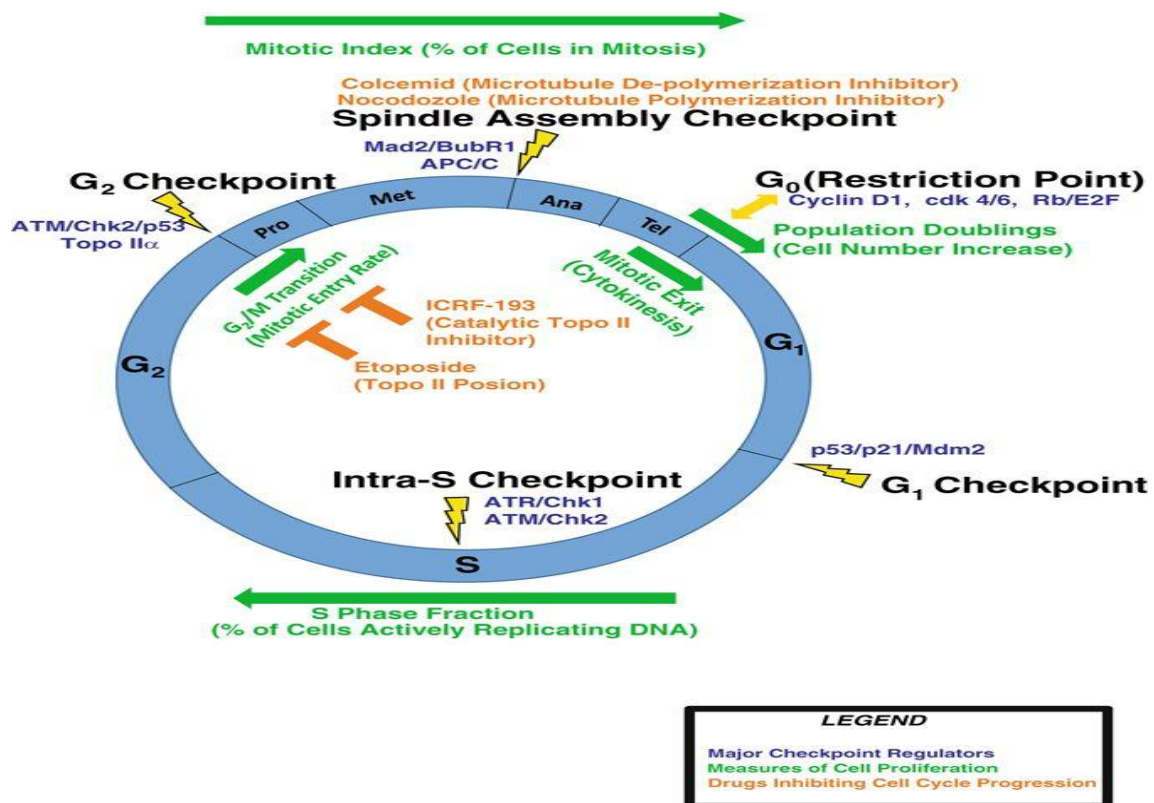


Figura 8. Fases del ciclo celular (Bower et al, 2017)

Las fases G₁, S y G₂ forman la interfase, que es el conjunto de procesos del ciclo celular eucariota que ocurren entre dos mitosis consecutivas. La interfase representa la mayor parte del ciclo celular eucariota: 23 horas en un ciclo de 24 horas, con una hora para la fase M (Alberts et al, 2007)

- ❖ Fase G₁: Durante la fase G₁, se producen dos fenómenos. Por un lado, se produce el crecimiento celular que permitirá la replicación y posterior división del DNA. Por otro lado, durante esta fase se produce la monitorización del ambiente celular interno y externo con el fin de asegurar que las condiciones son adecuadas para la fase S. En la fase G₁ se encuentra el primer punto de control del ciclo celular eucariota: el punto de restricción.
 - Punto de control G₁ o Punto de restricción: El punto de control G₁ decide si la célula entra en fase M o no. Para tomar esta decisión, la célula evalúa las condiciones intracelulares y extracelulares. Por ejemplo, la integridad del DNA (¿está dañado el DNA?), la existencia de nutrientes (¿tiene la célula suficiente reserva de energía o nutrientes disponibles para dividirse?), el tamaño (¿es suficientemente grande?, y las señales moleculares (¿la célula está recibiendo señales positivas, como factores de crecimiento, de sus células vecinas? Como consecuencia:
 - La célula pasa el punto de restricción: La célula llegará a la fase M dando lugar a dos células hijas.
 - La célula no pasa el punto de restricción: La célula entrará en un estado de reposo llamado fase G₀. Algunas células se mantienen en G₀ de forma transitoria, hasta que

condiciones intracelulares y extracelulares mejoren. Otras células permanecen en G0 de forma permanente.

- ❖ Fase S: Durante la fase S, se produce la replicación del DNA. Cada cromosoma se duplica y pasa a estar formado por dos cromátidas idénticas. Con la duplicación del DNA, el núcleo contendrá el doble de proteínas nucleares y de DNA.
- ❖ Fase G2: Al igual que en G1, durante la fase G2 se producen dos fenómenos. Por un lado, se produce el crecimiento celular. Por otro lado, durante esta fase se produce la monitorización del ambiente celular interno y externo, con el fin de asegurar que las condiciones son adecuadas para la fase M.
 - Punto de control G2: El punto de control G2 permite evaluar la integridad del DNA y la correcta replicación del DNA, para evitar errores en la división celular.
 - La célula pasa el punto de control G2: La célula llegará a la fase M
 - La célula no pasa el punto de control G2: Se han detectado daños en el DNA o errores en la replicación, de manera que la célula se detendrá brevemente para reparar el DNA. Si el daño es irreparable, la célula puede experimentar apoptosis.
- ❖ Fase M: La fase M es la fase de mitosis. La fase de mitosis consiste en la división del material genético entre las dos células hijas, que son genéticamente idénticas entre ellas y a la célula madre. Comprende dos grandes procesos:
 - División del material genético: Los cromosomas se condensan, la membrana nuclear se rompe y el citoesqueleto se reorganiza para formar el huso mitótico, permitiendo que los cromosomas se muevan a polos opuestos de la célula
 - División celular o citokinesis: La célula madre se divide en dos células hijas, que gracias al proceso de división del material genético son genéticamente idénticas.

Punto de control del huso: Verifica el acoplamiento del cromosoma al huso mitótico en la placa metafásica.

El ciclo celular eucariota está regulado de forma precisa. La regulación depende del buen funcionamiento de 3 puntos de control, en los cuales se detiene la progresión del ciclo celular hasta que las condiciones intra/extracelulares sean favorables. Los puntos de control dependen, a su vez, de los reguladores del ciclo celular. Los reguladores principales de ciclo celular son las ciclinas y cinasas dependientes de ciclinas. Las ciclinas (ciclina de G1, ciclina de G1/S, ciclina de S y ciclina de D). Las ciclinas dirigen los acontecimientos del ciclo celular mediante la asociación con las cinasas dependientes de ciclinas (Cdks), que fosforilan proteínas blanco específicas.

De esta forma, los reguladores del ciclo celular responden a las condiciones intracelulares y extracelulares. Las señales positivas (por ejemplo, los factores de crecimiento a nivel extracelular) favorecen la actividad de las CDK mientras que las señales negativas (por ejemplo, daño al DNA), bloquean la actividad de las CDK (Figura 9).

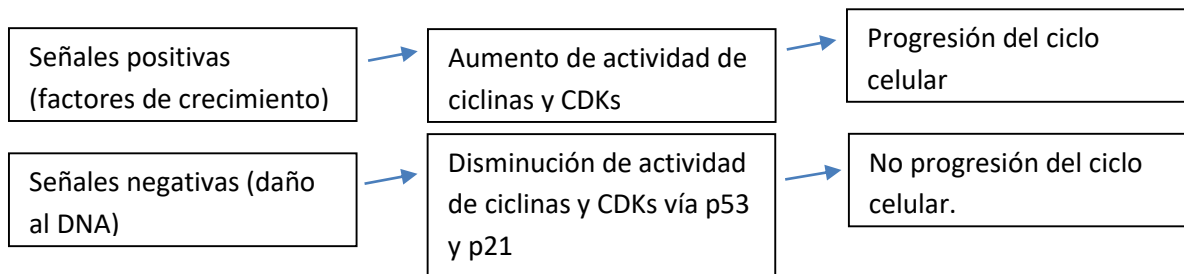


Figura 9. Resumen de los mecanismos de regulación de la progresión del ciclo celular.

Cuando se producen señales negativas intracelulares, en concreto daño celular, se produce el aumento de expresión del gen p53. En células normales, el nivel de la proteína p53 es bajo porque se encuentra asociada a Mdm2, lo cual induce su ubiquitinación y destrucción por el proteasoma. Los daños del ADN y otras señales de estrés pueden hacer que p53 no se una a Mdm2 e incrementar su concentración, permitiendo que realice su función de factor de transcripción. La función de p53 sobre el ciclo celular consiste en la detención del ciclo en las fases G1/S o G2/M mediante la inducción de la expresión de distintos genes, entre los cuales destaca el gen p21 y un inhibidor de las Cdk.

La melatonina incrementa la duración del ciclo celular mediante tres mecanismos demostrados in vitro (células de cáncer mamario MCF-7, células mieloides HL-60 y células de hepatocarcinoma HepG2):

- ❖ Fase G1: Prolongación de la fase G1 y G0.
Reduce el crecimiento celular y restringe el paso a través del punto de restricción, llevando a las células al estado G0. Este fenómeno podría explicarse, al menos parcialmente, por la up-regulation de p53 y p21 que se ha descrito en diferentes líneas celulares (Mediavilla et al, 2010). De esta forma, p53 y p21 ejercerían un efecto negativo sobre distintas Cdk. En concreto, existen estudios proponiendo la regulación negativa de:
 - Ciclina D1: Mediado por proteínas c-jun y ATF-2 (Cini et al, 2005).
 - CDK2 y CDK4 en las líneas celulares OVCAR-429 y PA-1 del cáncer de ovario (Izaguirre-Lasa, 2017).

Se trata de un gran hallazgo, porque es la primera explicación molecular acerca de los efectos en el ciclo celular de la melatonina. Además, demuestran la utilidad de la melatonina como quimioterápico adyuvante.

- ❖ Fase S: Retraso en la entrada en fase S

El retraso en la fase S podría explicar la disminución de la síntesis de DNA en células MCF-7 tratadas con melatonina (Cos et al, 1996).

❖ G2/M: Secuestro en la fase G2/M

Se ha propuesto que la clave de la acción antiproliferativa de la melatonina es la inhibición de la ciclina D1 (a través de c-jun y ATF-2). Estos hallazgos establecen, por vez primera, una relación molecular entre la melatonina y sus efectos en el ciclo celular, de manera que se halla una explicación racional a su uso en quimioterapia adyuvante.

En relación con los efectos de la melatonina sobre el ciclo celular en células tumorales también se ha descrito un alargamiento del ciclo celular. En células tumorales mamarias humanas la melatonina aumenta la duración del ciclo celular también actuando sobre las fases G0-G1 (Cos et al, 1996).

MODULACIÓN DE LA DIFERENCIACIÓN CELULAR

La diferenciación celular es el proceso mediante el cual las células de un linaje celular concreto (el linaje celular se determina en el momento de la formación del embrión) sufren modificaciones en su expresión genética para adquirir la morfología y las funciones de un tipo celular específico.

Los distintos mecanismos que regulan la división celular normal también participan en la tumorigénesis. La relación entre progresión tumoral y diferenciación celular está muy bien establecida: los tumores bien diferenciados son menos agresivos y presentan mejor pronóstico, mientras que los tumores poco diferenciados son más agresivos y generalmente presentan un peor pronóstico (Mediavilla et al, 2010).

La melatonina induce la diferenciación celular, tanto en células tumorales como normales. De esta manera, favorece que los tumores sean menos agresivos y presenten un mejor pronóstico. Existen dos mecanismos fundamentales:

- ❖ Ciclo celular: Incremento de la duración del ciclo celular (mediante prolongación de G0-G1) y retraso en la entrada de las células en la fase S (Mediavilla et al, 2010). Este fenómeno tiene implicaciones terapéuticas: es uno de los responsables de la mejora de la supervivencia y la calidad de vida en pacientes con glioblastoma que son tratados con radioterapia (Blask et al, 2002, referencia 17 de Nuria Puente Ruiz)
- ❖ Uniones GAP: Las uniones intercelulares GAP están involucradas en el control de la proliferación y diferenciación celular, y juegan un papel crucial en la supresión del desarrollo tumoral. Las células cancerígenas presentan uniones GAP anormales y las células sanas presentan uniones GAP normales. La melatonina es capaz de modular positivamente los niveles de uniones GAP normales en las células malignas de los tumores, regulando de esta forma su crecimiento y su diferenciación (Cos et al, 2006).

MODULACIÓN DE LA APOPTOSIS

La apoptosis es un mecanismo de muerte celular programada, que ocurre de forma fisiológica durante el desarrollo como un mecanismo homeostático para

mantener estable la población celular en los tejidos, tanto cuantitativamente (que no se produce una sobreproliferación celular) tanto cualitativamente (que no se repliquen células con DNA dañado) (S. Elmore, 2007)

Las vías de la apoptosis son dos:

- ❖ Vía extrínseca: Activada por la unión de ligandos de muerte extracelulares (por ejemplo, FASL) a receptores de muerte transmembrana (por ejemplo, FAS) que conducen a la formación de DISC (death-inducing signalling complex). DISC favorece la autoactivación de la caspasa 8, lo cual inicia dos procesos:
 - Activación de caspasas 3-7: Que producen apoptosis.
 - Activación de la vía intrínseca: Activan BAX/BAK que favorece la aparición de permeabilización de la membrana externa mitocondrial.
- ❖ Vía intrínseca o vía mitocondrial: Activada por estímulos que conducen a la permeabilización de la membrana externa mitocondrial, lo que favorece la liberación de proteínas desde el espacio intermembrana mitocondrial. Entre estas proteínas destaca el citocromo C. El citocromo C se une a APAF-1 para, en presencia de ATP, formar el apoptosoma. El apoptosoma crea una plataforma que permite la autoactivación de la caspasa-9, lo que permite la apoptosis celular.

De forma resumida, las vías intrínseca y extrínseca de la apoptosis se basan en la activación de cascadas de señalización celular dependientes de caspasas, cuya autoactivación se produce por “plataformas moleculares” como el DISC (en la vía extrínseca) y apoptosoma (en la vía intrínseca), que son ensambladas por interacciones ligando-receptor en la vía extrínseca o permeabilización de la membrana mitocondrial externa en la vía intrínseca. (Alberts et al,

Este proceso de apoptosis está en parte controlado por p53. El p53 inicia una serie de mecanismos antiproliferativos en respuesta a diversas señales de estrés. Una de las funciones más importantes de p53 es activar la apoptosis.

Los efectos de la melatonina sobre la apoptosis están documentados, pero no son siempre consistentes (Mediavilla et al, 2010). Por un lado, se ha demostrado su efecto anti-apoptosis en células normales y su efecto pro-apoptótico en diversas líneas celulares (células mieloides humanas HL-60, células linfoides humanas de linfoma B, células de cáncer mamario MCF-7, células de cáncer colorrectal HT-29, células de tumores hipofisarios secretores de prolactina en ratas, células de cáncer de próstata LNCaP y células de hepatocarcinoma humano HepG2). Por otro lado, también se ha documentado tanto efectos anti-apoptóticos de la melatonina en células tumorales, como su ausencia de efecto sobre la apoptosis en otros casos (Mediavilla et al, 2010).

El mecanismo de acción de los efectos pro-apoptóticos de la melatonina es solo parcialmente conocido. Algunos mecanismos descritos son:

- ❖ Incremento de expresión de p53 y p21: Descrito en células de cáncer de mama MCF-7, células de hepatoma de ratón H22 y de hepatocarcinoma humano HepG2 (Mediavilla et al, 2010).
- ❖ Liberación citosólica del citocromo C, regulación positiva de Bax e inducción de caspasas 8 y 9: Descrito en células de hepatocarcinoma humano (Mediavilla et al, 2010).

Las implicaciones terapéuticas del propuesto efecto pro-apoptótico de la melatonina en células tumorales más importantes son las siguientes (Mediavilla et al, 2010):

- ❖ Cáncer gástrico: La melatonina induce la apoptosis en líneas celulares de cáncer gástrico al activar las vías apoptóticas dependientes de las caspasas.
- ❖ Tumores sólidos sometidos a hipoxia: Las células tumorales en condiciones de hipoxia pueden desarrollar resistencia a la apoptosis mediada por TRAIL (Ligando Inductor de Apoptosis relacionado con el Factor de Necrosis Tumoral). Se han demostrado dos fenómenos:
 - La melatonina reduce este efecto anti-apoptótico de la hipoxia.
 - La melatonina podría tener utilidad terapéutica en combinación con otros ligandos proapoptóticos como el propio TRAIL.
- ❖ Líneas celulares de Sarcoma de Ewing y células del glioma humano: Hay casos en los cuales la melatonina sinergiza con otros fármacos antitumorales para inducir la apoptosis. De esta forma, la combinación de melatonina con vincristina o ifosfamida producen un aumento significativo de la activación de las caspasas 3, 8, 9 y BID, en comparación con tratamientos individuales. De esta manera, se potencia la apoptosis, fundamentalmente la vía extrínseca (Mediavilla et al, 2010).

INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA TELOMERASA

Los telómeros humanos funcionan como una estructura protectora, que se encuentra en los extremos del cromosoma. Están formados por secuencias largas repetitivas de TTAGGG, asociadas con TBP (telomere binding proteins). Los telómeros protegen los cromosomas de diversos eventos que conducen a la muerte celular (recombinación, degradación, fusión de extremos, etc). Con la edad, los telómeros se acortan gradualmente, y cuando llegan a un punto crítico, la replicación celular se detiene en un proceso conocido como “senescencia replicativa”. De esta forma, los telómeros actúan como un mecanismo celular intrínseco de envejecimiento. La desregulación de los telómeros juega así un papel importante en la relación entre síndrome de envejecimiento prematuro y cáncer.

La telomerasa es un complejo enzimático ribonucleoproteico que actúa como una transcriptasa inversa en la elongación de los telómeros. La actividad telomerasa está casi ausente en las células somáticas y está presente en dos casos: células tumorales y células madre embrionarias. Las células tumorales contienen, de esta forma, telómeros cortos y estables que confieren inmortalidad a las células cancerígenas, que de esta forma se pueden replicar de forma indefinida (Wai et al, 2004).

En las células normales, la melatonina aumenta la actividad telomerasa de manera que inhibe la senescencia replicativa. Esto ha sido demostrado en células de la mucosa gástrica, y podría ser un mecanismo para retrasar el envejecimiento de la misma.

En células tumorales, el efecto de la melatonina se estudia a través de hTERT. HTERT (telomerasa transcriptasa inversa) es una subunidad catalítica de la telomerasa y su expresión resulta decisiva en la actividad de la misma. Por tanto, hTERT es un indicador de la activación de la telomerasa al correlacionarse con la actividad de dicha enzima. Los efectos anti-telomerasa han sido observados *in vivo* e *in vitro*:

- ❖ *In vitro*: Tras la administración de melatonina, la expresión de ARNm de hTERT inducida por estradiol disminuye de forma dosis dependiente (Mediavilla et al, 2010).
- ❖ *In vivo*: En células tumorales. la melatonina reduce la actividad de la telomerasa, provocando un descenso de la expresión de hTERT de forma dosis dependiente. Esto se ha demostrado en células de cáncer mamario MCF-7.

La principal implicación terapéutica del efecto anti-telomerasa de la melatonina en células tumorales es la posibilidad de su utilidad en el tratamiento de tumores dependientes de estrógenos o debidos a exposiciones ambientales/ocupacionales a xenoestrógenos (Mediavilla et al, 2010). La explicación a estos fenómenos es:

- ❖ Tumores dependientes de estrógenos: Los estrógenos presentan capacidad para activar la telomerasa. Concretamente, el estradiol promueve la actividad de la telomerasa en células MCF-7 ER- α positivas. La acción antiestrogénica de la melatonina produce una inhibición del efecto pro-telomerasa del estradiol en células MCF-7 ER- α positivas.
- ❖ Tumores producidos por exposición ambiental/ocupacional a xenoestrógenos: El más destacado es el cadmio, que es un metal pesado con propiedades estrogénicas y actividad carcinogénica. El cadmio favorece la producción de estradiol, que tiene efectos pro-telomerasa sobre células MCF-7 ER- α . La melatonina inhibe este efecto, por tanto, podría ser útil en el tratamiento de los tumores producidos por cadmio.

EFFECTOS ANTIOXIDANTES

El estrés oxidativo es el proceso de deterioro celular dependiente de la producción de radicales libres. El estrés oxidativo se produce por un desequilibrio entre la producción y la inactivación de los ROS. Está involucrado en distintas patologías, incluyendo las neoplasias.

Los radicales libres o ROS (reactive oxygen species) son átomos o moléculas que proceden del metabolismo aerobio y que tienen alta capacidad reactiva.

Los ROS son un arma de doble filo: por un lado son moléculas señalizadoras que cumplen funciones fisiológicas y por otro son moléculas dañinas para otras moléculas de su entorno. Cuando la molécula dañada es el DNA, se desencadenan neoplasias (IIMEL).

La melatonina y sus metabolitos presentan efecto anti-oxidante, Este efecto anti-oxidante se ejerce a través de dos mecanismos (Figura 10):

- ❖ Directos: Neutralización de ROS. Se ha demostrado que la melatonina neutraliza los siguientes ROS: radical hidroxilo, anión superóxido, peróxido de hidrógeno, peroxinitrito y óxido nítrico.
- ❖ Indirectos: Favorece la producción de enzimas anti-oxidantes e inhibe la producción de enzimas pro-oxidantes.
 - Enzimas anti-oxidantes: Se ha demostrado que la melatonina induce la expresión de glutatión peroxidasa, glutatión reductasa, superóxido dismutasa y la catalasa.
 - Enzimas pro-oxidantes: Se ha demostrado que la melatonina inhibe la expresión de la óxido nítrico síntasa.

La actividad antioncogénica de tipo antioxidante de la melatonina ha sido demostrada en tumores renales en hámsters inducidos por E2. El E2 es un carcinógeno que actúa de dos maneras: proliferación celular de tejidos diversos (como mamario y endometrial) y efecto oxidante dependiente (estos metabolitos son oxidados a semiquinonas, que forman ROS cuando entran en contacto con oxígeno molecular, fundamentalmente radicales de anión superóxido e hidroxilo, que producen la oxidación de las bases de guanina del DNA, causando daño del DNA y favoreciendo la aparición de tumores (Karbownik et al, 2001)

La principal implicación terapéutica del efecto antioxidante de la melatonina es doble:

- La posibilidad de su utilidad en el tratamiento de tumores dependientes de estrógenos. Como hemos explicado, neutraliza los efectos de E2 a nivel de proliferación tisular y agente oxidante (Karbownit et al, 2001)
- La posibilidad de su utilidad como tratamiento adyuvante de la quimioterapia y la radioterapia sobre tumores. Estos tratamientos inducen la formación de radicales libres que constituyen la base de los efectos secundarios de estas terapias. La melatonina parece reducir estos efectos negativos, tal y como demostró un meta-análisis reciente.
 - Este meta-análisis incluía 33 estudios entre 1996 y 2007, con una población de 2446 casos y concluía que la melatonina redujo la neurotoxicidad, mielosupresión, astenia, caquexia y diarrea in tratamientos quimioterápicos en diferentes tipos de tumores (Mediavilla et al, 2010).

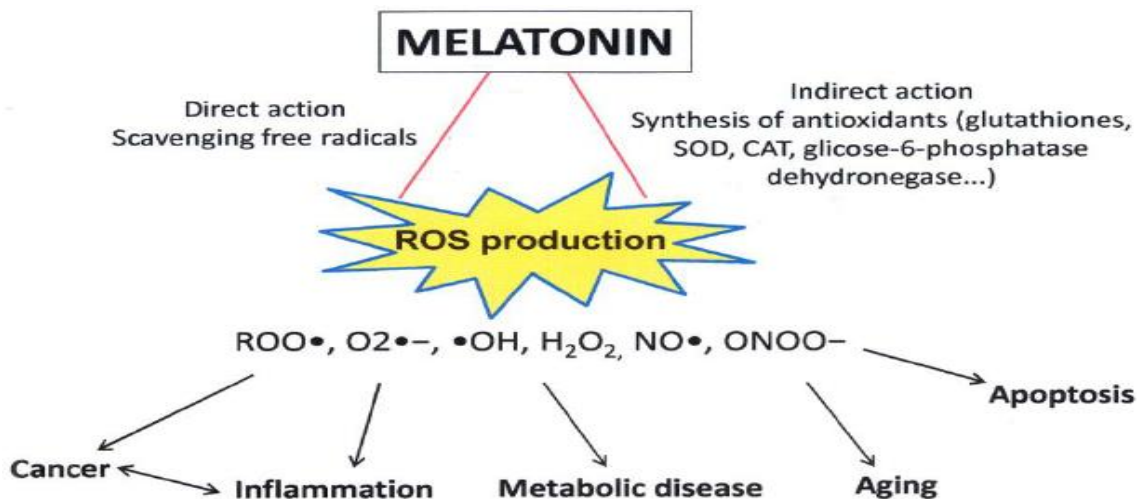


Figura 10. Acciones antioxidantes de la melatonina (Chuffa et al, 2013)

EFFECTOS ANTI-ANGIOGÉNICOS DE LA MELATONINA

La angiogénesis es el proceso de formación de vasos sanguíneos nuevos a partir de los vasos sanguíneos preexistentes. La angiogénesis es un proceso tanto fisiológico (participa en procesos como el desarrollo embrionario, el crecimiento del organismo o la cicatrización de las heridas) como patológico (es un proceso fundamental en las neoplasias). De esta manera, la inhibición de la angiogénesis es una estrategia oncológica que está siendo investigada actualmente.

La angiogénesis tumoral tiene como objetivo asegurar el aporte de oxígeno a las células tumorales. Cuando este aporte es insuficiente, la hipoxia favorece la producción de HIF (factor inducible por hipoxia), que induce la expresión de genes inducibles por hipoxia, entre los cuales destacan VEGF (factor de crecimiento del endotelio vascular), PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas) y TGF-alfa (transforming growth factor- α). De esta manera, los pacientes con tumores tienen niveles anormalmente elevados de VEGF, que se correlacionan con rápido crecimiento tumoral, metástasis tempranas y, en definitiva, mal pronóstico.

La melatonina presenta efecto anti-oxidante, y lo ejerce a través de dos mecanismos.

- ❖ Directos: Antagonizan la activación de las células endoteliales. Como diremos posteriormente, las concentraciones altas de melatonina reducen la proliferación de células endoteliales (HUVEC) (Alvárez-García et al, 2013).
- ❖ Indirectos (Mediavilla et al 2010).
 - HIF-1: Inhibe su expresión o contribuye a su desestabilización al neutralizar los ROS producidos durante la hipoxia que contribuyen a estabilizar esta molécula.
 - VEGF: Inhibe su expresión.

- Otros factores de crecimiento: IGF-1, EGF y ET-1, la melatonina inhibe su expresión.

Los efectos anti-angiogénicos de la melatonina han sido demostrados tanto *in vivo* como *in vitro*:

- ❖ *In vivo*: La primera descripción de las propiedades antiangiogénicas de la melatonina surgió de un estudio clínico (Lissoni et al, 2001). Este estudio reveló una disminución de los niveles séricos de VEGF en pacientes tratados con melatonina.
- ❖ *In vitro*: La acción antiangiogénica de la melatonina ha sido demostrada en diferentes líneas celulares.
 - HUVEC (human umbilical vein endothelial cells): Concentraciones altas de melatonina (más de 10 nmol/L) redujeron de forma significativa la proliferación de HUVECs, indujeron apoptosis celular y modularon la duración del ciclo celular y la expresión de p53 y Bax/Bcl-2 (Alvárez-García et al, 2013). Concentraciones en el rango milimolar de melatonina regulan diferentes pasos del proceso angiogénico, inhiben la proliferación, la migración y la formación de nuevas estructuras vasculares por parte de las células endoteliales (Cos et al, 2014).
 - Células de cáncer mamario humano (MCF-7): en cocultivos de células tumorales mamarias con células endoteliales, la melatonina inhibió la producción y la expresión de VEGF por parte de las células tumorales, lo que inhibió la proliferación de las células endoteliales (Alvarez-Garcia et al, 2013).
 - PAN-C, HeLa y A549: Concentraciones farmacológicas de melatonina redujeron los niveles de mRNA de VEGF y de proteínas inducibles por hipoxia. También redujeron la expresión de proteína HIF-1^a.
 - Células de cáncer prostático (DU145, PC-3 y LNCaP): Concentraciones farmacológicas de melatonina inhibieron la expresión de proteína HIF-1^a en condiciones de hipoxia y normoxia. Además, se inhibió la actividad transcripcional de HIF-1 y la liberación de VEGF (Mediavilla et al, 2010).
 - Células de cáncer de colon: La melatonina reduce la expresión de ET-1 vía inactivación de FOXO1 y NF-kB. Esto revela una nueva estrategia antiangiogénica de la melatonina (Leon et al, 2014).

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 (Valdor Cerro, 2017).

PREVENCIÓN DE LA DISRUPCIÓN CIRCADIANA

El reloj circadiano es un mecanismo complejo que sincroniza las funciones fisiológicas de una persona en ritmos de 24 horas. Controla gran cantidad de procesos biológicos: ciclos sueño/vigilia, temperatura corporal, secreción de hormonas, función intestinal, homeostasis del metabolismo glucídico y función inmune (Voigt et al, 2013). El reloj circadiano se encuentra en los núcleos supraquiasmáticos del hipotálamo. La principal aferencia que reciben los NSQ es el tracto retinohipotalámico. De esta forma, el reloj circadiano se sincroniza con el ciclo de luz/oscuridad para regular distintas funciones fisiológicas.

La disrupción circadiana es causada, fundamentalmente, por tres mecanismos. Dado que el principal sincronizador del reloj circadiano es el ciclo luz/oscuridad serán las alteraciones de dicho ciclo las causas principales de disrupción circadiana:

- Jet-lag: Alteración del ciclo luz/oscuridad cuando se viaja a través de distintas zonas horarias que produce una disrupción circadiana temporal, que desaparece cuando el organismo se re-adapta el nuevo ciclo luz/oscuridad de la nueva zona horaria.
- Trabajo por turnos: La adaptación de horarios de trabajo que no se adaptan al ciclo luz/oscuridad producen disrupciones circadianas. Esto sucede en 15% de la población de EEUU.
- Días de no-24 horas.

La relación entre cronodisrupción y desarrollo tumoral existe, pero todavía no se conoce totalmente.

Por un lado, parece existir una relación entre la cronodisrupción y los genes reloj. Los genes reloj (PER 1 o PER2) son un conjunto de complejos de transcripción que gobiernan los ritmos circadianos mediante la modulación de la expresión de diversos genes del ciclo celular. Estos genes están implicados en los mecanismos de daño del DNA. Cuando hay una sobre-expresión de estos genes en células cancerígenas, se produce una inhibición del crecimiento tumoral y un incremento de la tasa de apoptosis.

Por otro lado, parece existir una relación entre la cronodisrupción y la producción de melatonina. La exposición a luz durante períodos de oscuridad (LAN) disminuye la secreción de melatonina, influyendo en la velocidad de crecimiento de células tumorales. En ratas con células de hepatoma de Morris que fueron sometidas a LAN, se observó la reducción de los niveles de melatonina nocturnos y el aumento del crecimiento tumoral, que además se relacionó positivamente con la intensidad de LAN. La principal causa de LAN natural es el trabajo a turnos de noche, y por eso, la IARC (International Agency For Research on Cancer) ha reconocido este trabajo a turnos como un probable carcinógeno para los humanos (Mediavilla et al, 2010).

INHIBICIÓN DE METÁSTASIS

La metástasis tumoral es el proceso mediante el cual las células escapan del sitio primario, pasan a la circulación e invaden y se desarrollan a distancia. La formación de metástasis es un proceso de múltiples etapas, que puede ser inhibido por la melatonina:

DISOCIACIÓN: Dentro del tumor primario, solo un subgrupo de células tumorales adquiere propiedades invasivas. En primer lugar, estas células deben disociarse del tumor primario. Esto es posible gracias a la destrucción de los mecanismos de adhesión intercelulares, que son: TJ (tight junctions), AJ (adherens junctions), Gis (gap junctions), desmosomas y hemidesmosomas. La melatonina regula la expresión de moléculas asociadas con TJ y AJ.

- ❖ AJs: La E-cadherina es una molécula de gran importancia para mantener la estructura de las AJs. Se ha demostrado que los tumores invasivos presentan una expresión reducida de E-cadherina. En células MCF-7, la melatonina incrementa la expresión de E-cadherina, a través de la interferencia entre C/EBPB y NF-KB por medio de la acción de la calpain, inducida por estrés del retículo endoplásmico.
- ❖ TJs: La ocludina es una molécula de gran importancia para mantener la estructura de las AJs. En los tumores, la expresión reducida de ocludina favorece la invasividad. En células A549 de adenocarcinoma de pulmón, la melatonina incrementa la expresión de ocludina (Su et al, 2016, cáncer metástasis).
- ❖ Las células tumorales invasivas disociadas del tumor primario atraviesan la membrana basal y la ECM (matriz extracelular). Esto es posible gracias a las alteraciones de la expresión de integrinas, que funcionan anclando las moléculas del espacio extracelular al esqueleto de actina intracelular. La melatonina favorece la expresión de β 1-integrina (Cos et al, 1998).

En conjunto, estos procesos se denominan transición epitelial-mesenquimal, y consisten en: pérdida de adhesiones célula-célula, pérdida de la polaridad apical-basal, reorganización del citoesqueleto y adquisición de fenotipos migratorios.

El sustrato molecular es la expresión de distintos factores de transcripción, entre los cuales destacan Snail y Slug. La melatonina activa GSK-3B, que limita la expresión de factores de transcripción asociados a EMT, como Snail y Slug.

INTRAVASACIÓN Y ANGIOGÉNESIS: Como hemos explicado, la hipoxia en las células tumorales favorece la producción de HIF-1, que favorece la expresión de múltiples genes como VEGF. VEGF favorece la formación de nuevos vasos sanguíneos que aportan a las células tumorales el oxígeno que necesitan y una vía de escape a la circulación sanguínea. La melatonina inhibe la expresión de VEGF.

EXTRAVASACIÓN E INVASIÓN DE NUEVOS ÓRGANOS: La matriz extracelular participa en la génesis de metástasis de dos formas. Por un lado,

sirve como un anclaje para las células tumorales, que de esta manera pueden establecer un tumor secundario potencial y por otro lado constituye un reservorio de factores de crecimiento. Las metaloproteasas remodelan la ECM y en este proceso liberan los factores de crecimiento que favorecen el crecimiento tumoral. La melatonina inhibe la expresión y actividad de MMP-9 (Figura 11). El anclaje depende en gran medida del citoesqueleto celular. Ciertos filamentos intermedios como la vimentina están involucrados en la adhesión, migración y la invasividad celular. La melatonina a concentraciones fisiológicas produce una serie de cambios en la fosforilación de esta proteína, que podría disminuir el potencial metastásico de las células tumorales.

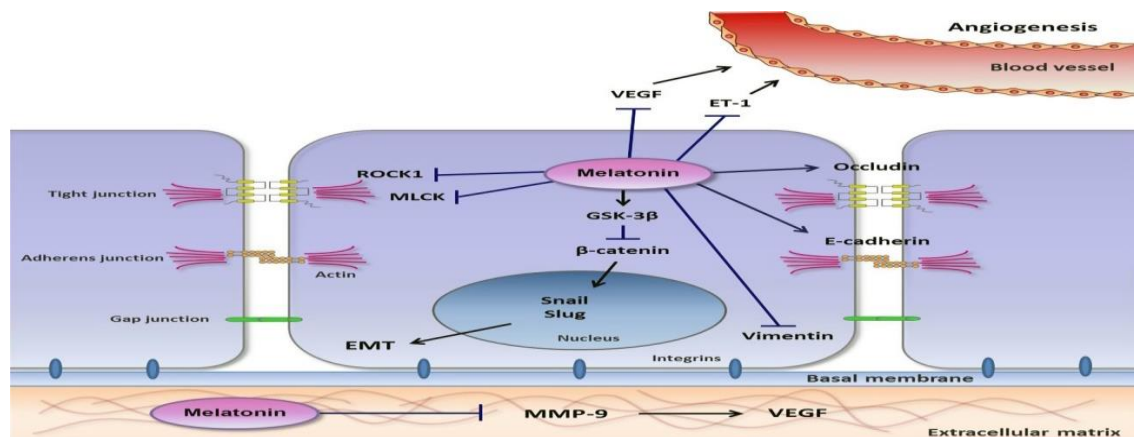


Figura 11: Efectos anti-metastásicos de la melatonina (Su et al, 2016)

En resumen, la progresión atraviesa un espectro de invasión desde células pobremente invasivas (que expresan E-cadherina y B1-integrina) hasta células muy invasivas (pobremente diferenciadas, pierden los receptores estrogénicos y la expresión de la E-cadherina, tienen una menor expresión de integrinas y expresan vimentina). La melatonina lleva a las células MCF-7 a un menor estado de invasión, aumentando la expresión de β 1-integrina y de la E-cadherina y promoviendo la diferenciación de las células. Además, bloquea los efectos estimulantes del 17 β -estradiol sobre la invasividad celular (Cos et al. 1998, Cancer Res, Influence of melatonin)

EFFECTOS INMUNOMODULADORES

El sistema inmunitario está formado por una respuesta innata (esta respuesta es rápida, mediada por monocitos, macrófagos, células NK y demás) y una respuesta adaptativa (esta respuesta es de larga duración, mediada por linfocitos T y B).

La capacidad inmunomoduladora de la melatonina ha sido demostrada de dos maneras:

- ❖ La disminución de los niveles de melatonina deprime la inmunidad celular y humoral. La pinealectomía o cualquier otro procedimiento que inhiba la síntesis y secreción de melatonina deprime la función inmunitaria (Mediavilla et al, 2010).

- ❖ El aumento de los niveles de melatonina estimula la inmunidad celular y humoral (Figura 12), a través de la unión a receptores de membrana y nucleares que se encuentran en las células del sistema inmunitario (Mediavilla et al, 2010): producción de NK, producción de monocitos, producción de leucocitos, producción de citosinas (Interleucinas, IL-2, IL-6, IL-12, Interferón-gamma, TNF-alfa).

De esta manera, la melatonina se considera un inmunoestimulador, aunque en algunos modelos experimentales, induce una severa atrofia de tejido linfoide mamario, En concreto, este fenómeno ha sido documentado en experimentos con roedores transgénicos con una sobre-expresión del proto-oncogen N-RAS (Mediavilla et al, 1997).

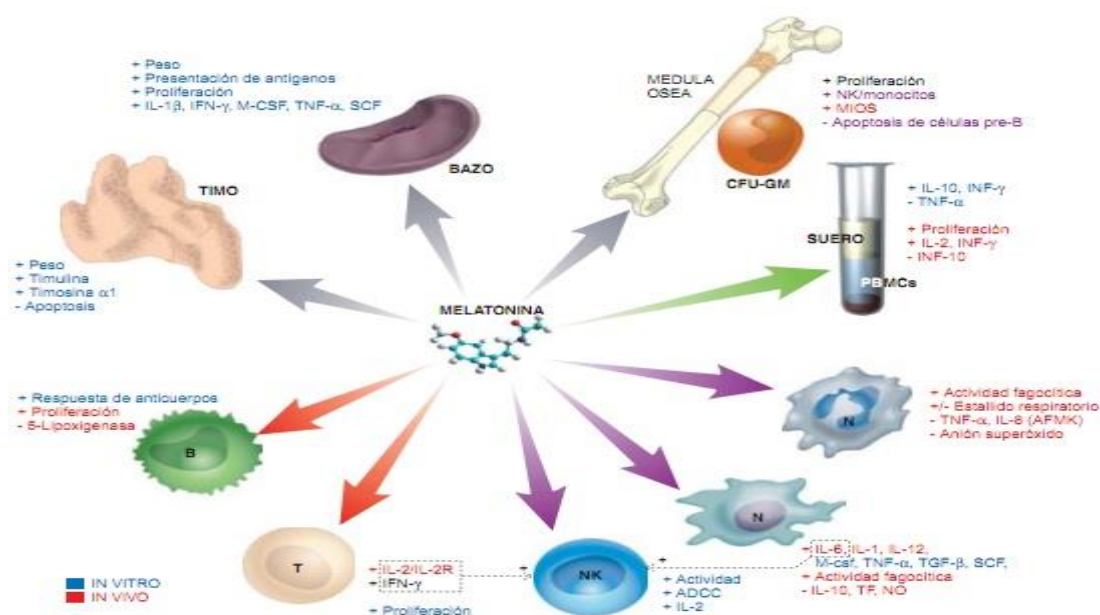


Figura 12: Regulación del sistema inmunitario por la melatonina

EFFECTOS SOBRE LA REGULACIÓN EPIGENÉTICA

La epigenética es la regulación de la expresión génica de una célula sin alteración de la secuencia de DNA. Los factores epigenéticos están determinados por el ambiente celular y juegan un papel clave en el desarrollo de los tumores. Los mecanismos epigenéticos fundamentales son:

METILACIÓN DEL DNA: La metilación del ADN es un proceso epigenético por el cual se añaden grupos metilo al ADN. La metilación modifica la función del ADN cuando se encuentra en el gen promotor. La metilación del ADN generalmente actúa para reprimir la transcripción génica. La metilación del ADN es esencial para el desarrollo normal y se asocia con una serie de procesos clave, incluyendo la impronta genómica, la inactivación del cromosoma X, la represión de elementos repetitivos, el envejecimiento y la carcinogénesis.

Los patrones aberrantes de metilación del DNA son la hipermetilación y la hipometilación, que se han asociado a diversas enfermedades, siendo la hipermetilación uno de los factores epigenéticos de mayor importancia a la hora de suprimir la transcripción de genes supresores tumorales.

MODIFICACIÓN POST-TRASDUCCIONAL DE LAS HISTONAS: La modificación post-trasduccional de las histonas es un proceso epigenético mediante el cual se produce la acetilación, desaminación, metilación, ubiquitinización o isomerización de las mismas.

RNA NO CODIFICANTE: El RNA no codificante presenta secuencias complementarias que permiten su unión al ADN o ARN codificante, y cuyo objetivo final es impedir la traducción de las proteínas (Berger et al, 2009).

Existen datos indirectos que apuntan a la implicación de la melatonina en la metilación del DNA y la desacetilación de las histonas (Mediavilla et al, 2010) a través de:

- ❖ Inhibición de la histona acetil transferasa de macrófagos, de esa manera inhibe la acetilación de p52 y la unión a DNA, silenciando los genes iNOS y COX-2 (Deng et al, 2006).
- ❖ Incremento de la acetilación de la histona H3, que se relaciona con remodelado de cromatina y transcripción génica, en células madre neurales C17.2 tratadas con melatonina durante 24 horas (Sharma et al, 2008).

EFFECTOS SOBRE EL TRANSPORTE Y METABOLISMO DE LOS ÁCIDOS GRASOS

La acción antitumoral de la melatonina relacionada con el transporte y metabolismo de los ácidos grasos está asociada al ácido linoleico. El ácido linoleico es un ácido graso poli-insaturado esencial de la serie omega-6. El organismo no puede crearlo y tiene que ser adquirido a través de la dieta (semillas de la uva, huevos, aguacate, cereales, trigo, nueces, piñones, etc), siendo el más consumido por la población. El ácido linoleico favorece el crecimiento celular, demostrándose que un incremento del ácido linoleico en sangre produce un aumento de la tasa de crecimiento celular. Este fenómeno es producido por su metabolito 13-HODE, que activa la señalización mitogénica vía EGFR/MAPK, al incrementar la fosforilación del EGFR inducida por el EGF (Epidermal Growth Factor) y activar la actividad de las proteínquinasas vía MAPK (Sauer, 2001). La melatonina, a través de su receptor de membrana, bloquea la captación de ácido linoleico por las células tumorales y su conversión a 13-HODE, impidiendo la activación de EGFR/MAPK (Blask et al, melatonin as chronobiotic/anticancer agent 2002).

APLICACIONES DE LA MELATONINA EN LA PRÁCTICA CLÍNICA

Actualmente, la melatonina tiene una indicación clínica: manejo de los trastornos del sueño (Cardinali et al, 2011). De esta forma, la administración exógena de melatonina puede mejorar la cantidad y calidad del sueño, en dos tipos de pacientes:

- ❖ Pacientes con secreción endógena de melatonina reducida: Esto ocurre en personas de edad avanzada o en aquellos que usan β -bloqueantes (Fares, 2011).
- ❖ Pacientes en los cuales el ritmo circadiano natural de la melatonina está afectado: Esto ocurre en trabajadores nocturnos o personas ciegas (Khan et al, 2011).
- ❖ Insomnio: En pacientes con insomnio, la melatonina parece inducir el sueño, aunque su acción hipnótica es leve (Kostoglou-Athanassiou, 2013).

Las ventajas de la melatonina en relación con otros agentes inductores del sueño son 3: la ausencia de somnolencia en la mañana siguiente, de síntomas de abstinencia y de adicción. Las desventajas son su corta vida media y su acción hipnótica leve. Por tanto, se han introducido análogos de la melatonina como el ramelteon y la agomelatina (Kostoglou-Athanassiou, 2013).

Sin embargo, a pesar de las aparentes ventajas de los preparados farmacológicos basados en melatonina con fines antitumorales, en la actualidad todavía son escasos los ensayos clínicos que incorporen la melatonina en los protocolos de actuación. Las tres principales referencias de las que disponemos actualmente son:

Los ensayos clínicos realizados por el grupo de Lissoni en Italia, durante los últimos 20 años. Estos estudios evaluaron el efecto de la melatonina en pacientes con tumores metastásicos de distinto tipo en estado terminal que no respondían a terapia convencional. La melatonina, administrada a razón de 20 mg/día, puede aumentar la eficacia terapéutica del tamoxifeno en mujeres con cáncer de mama metastásico e inducir regresiones tumorales objetivas en cánceres de mama metastásicos de mujeres que no habían respondido previamente a la terapia exclusiva con tamoxifeno, independientemente de los receptores de estrógenos. (Lissoni et al, 1999; decreased toxicity and increased efficacy).

El estudio realizado por Panzer y Viljoen (the validity of melatonin as an oncostatic agent) que hicieron un compendio de 49 ensayos clínicos publicados entre 1987-1995 (la mayoría de Lissoni) relativos a los usos clínicos de la melatonina en oncología. Este compendio incluía un total de 634 pacientes con diferentes tipos de tumores metastásicos que fueron tratados con melatonina en monoterapia o asociada a terapias estándar. Los resultados fueron los siguientes:

- ❖ Respuesta completa: La desaparición completa de todas las lesiones durante al menos 4 semanas fue documentada en 15 casos de 634.
- ❖ Respuesta parcial: La reducción del volumen tumoral de al menos un 50% fue descrita en 101 casos de 634 (16%).
- ❖ Respuesta ausente: La enfermedad continuó su progresión en 267 de 634 pacientes (42%).

- ❖ Enfermedad estable durante al menos 8 semanas: En 248 casos de 634 (39%).

Asimismo, de este metaanálisis se extrajeron más conclusiones: (1) la melatonina mejora la calidad de vida de estos pacientes, (2) disminuye la incidencia y severidad de los episodios de hipotensión que acontecen como efecto adverso de la terapia con interleukina-2, (3) contrarresta la trombocitopenia desarrollada como complicación de la quimioterapia, (4) disminuye la severidad de los síndromes mielodisplásicos inducidos por la quimioterapia, (5) disminuye la linfopenia inducida por la cirugía, (6) mejora el rendimiento de los pacientes (7) mejora los efectos inmunosupresores de otros fármacos citotóxicos y (8) reduce la ansiedad (Cos y Sánchez Barceló et al. 2000; Mediavilla et al, 2010; Romero et al, 2002).

El metaanálisis realizado por Mills y colaboradores en 2005 (Mills et al, 2005), que incluyó 10 ensayos clínicos aleatorizados llevados en cabo entre 1992 y 2003 (todos del grupo de Lissoni). Este estudio concluyó que la melatonina reducía la mortalidad a 1 año (cualquiera que sea la dosis y el tipo de cáncer).

La melatonina también podría tener un futuro en:

- ❖ Tratamiento de las manifestaciones sistémicas causadas por las enfermedades oncológicas: anorexia, caquexia, trastornos del sueño, etc.
- ❖ Terapia adyuvante de la quimioterapia y la radioterapia, dado que sus efectos antioxidantes podrían ayudar a reducir los efectos secundarios de estas). De esta forma, podría ser posible el incremento de la dosis de quimioterapia si se diera en combinación con la melatonina (Reiter et al, 2002).

En conclusión, el amplio efecto de la melatonina sobre distintos tipos de tumores, fundamentalmente en tumores hormono-dependientes como mamario y prostático, su sinergismo con otros agentes terapéuticos contra el cáncer, su ausencia de toxicidad y su gran disponibilidad a un coste mínimo deberían favorecer la realización de ensayos clínicos a gran escala (Hill et al, 2015).

CONCLUSIONES

La melatonina es la principal hormona secretada por la glándula pineal. Se caracteriza por su multifuncionalidad. Entre sus funciones se encuentra su acción antitumoral sobre distintos tumores. Estos efectos antitumorales han sido estudiados en cánceres diversos: próstata, sarcomas, colorrectal, hepatocarcinomas, melanoma, tumores neurales, carcinomas e laringe, carcinomas cutáneos, cáncer de mama y cáncer cervical. La conclusión general es que la melatonina inhibe la proliferación celular e induce la apoptosis en la mayoría de líneas celulares tumorales, y reduce la carcinogénesis y el crecimiento tumoral en tumores murinos químicamente inducidos. Estos efectos son más pronunciados en tumores hormodependientes, particularmente en tumores mamarios y prostáticos.

Los diferentes mecanismos de la acción antitumoral de la melatonina incluyen:

- Acción antiestrogénica: Actúa como SERM (regulando la expresión del receptor estrogénico) y como SEEM (regula la actividad enzimática involucrada en la síntesis local de estrógenos).
- Acción reguladora del ciclo celular: Disminuye la proliferación celular e induce la diferenciación celular y la apoptosis.
- Acción inhibidora de la actividad de la telomerasa.
- Acción antimetastásica: Favorece la expresión de perfiles celulares poco invasivos, caracterizados por la expresión de E-cadherina y B1-integrina.
- Acción antioxidante: Neutraliza radicales libres.
- Acción antiangiogénica.
- Acción inmunomoduladora: Induce la producción de citocinas en linfocitos y monocitos.
- Acciones epigenéticas: Implicación de la melatonina en la metilación del DNA y la desacetilación de las histonas.
- Acción preventiva de la disrupción de los ritmos circadianos.
- Acción reguladora del transporte y metabolismo de los ácidos grasos.

De esta forma, tenemos una molécula que presenta acciones antitumorales demostradas, sinergismo con otros tratamientos antitumorales como la quimioterapia, cuyos efectos secundarios ayuda a rebajar, fácil posología, ausencia de toxicidad y gran disponibilidad a bajo coste. Los ensayos clínicos que incluyen a la melatonina dentro de los protocolos de actuación, a pesar de ser escasos, todos ellos han coincidido en la efectividad de la melatonina en el tratamiento contra el cáncer.

BIBLIOGRAFÍA

- Acuña-Castroviejo, D., Escames, G., Venegas, C., Díaz-Casado, M. E., Lima-Cabello, E., López, L. C., Rosales-Corral, S., Tan, DX and Reiter, R. J. (2014). Extrapineal melatonin: sources, regulation, and potential functions. *Cellular and molecular life sciences*, 71(16), 2997-3025.
- Alvarez-García, V., González, A., Alonso-González, C., Martínez-Campa, C., & Cos, S. (2013). Antiangiogenic effects of melatonin in endothelial cell cultures. *Microvascular research*, 87, 25-33.
- Alvarez-García, V., González, A., Martínez-Campa, C., Alonso-González, C., & Cos, S. (2013). Melatonin modulates aromatase activity and expression in endothelial cells. *Oncology reports*, 29(5), 2058-2064.
- Bartsch, H., Buchberger, A., Franz, H., Bartsch, C., Maidonis, I., Mecke, D., & Bayer, E. (2000). Effect of melatonin and pineal extracts on human ovarian and mammary tumor cells in a chemosensitivity assay. *Life sciences*, 67(24), 2953-2960.
- Benitez-King, G., Huerto-Delgadillo, L., & Anton-Tay, F. (1993). Binding of 3H-melatonin to calmodulin. *Life sciences*, 53(3), 201-207.
- Berger, S. L., Kouzarides, T., Shiekhatar, R., & Shilatifard, A. (2009). An operational definition of epigenetics. *Genes & development*, 23(7), 781-783.
- Blask, D. E., Sauer, L. A., & Dauchy, R. T. (2002). Melatonin as a chronobiotic/anticancer agent: cellular, biochemical, and molecular mechanisms of action and their implications for circadian-based cancer therapy. *Current topics in medicinal chemistry*, 2(2), 113-132.
- Blask, D. E., Sauer, L. A., Dauchy, R. T., Holowachuk, E. W., Ruhoff, M. S., & Kopff, H. S. (1999). Melatonin inhibition of cancer growth in vivo involves suppression of tumor fatty acid metabolism via melatonin receptor-mediated signal transduction events. *Cancer research*, 59(18), 4693-4701.
- Bower, J. J., Vance, L. D., Psioda, M., Smith-Roe, S. L., Simpson, D. A., Ibrahim, J. G., Hoadley, Katherine A, Perou, CM & Kaufmann, W. K. (2017). Patterns of cell cycle checkpoint deregulation associated with intrinsic molecular subtypes of human breast cancer cells. *NPJ breast cancer*, 3(1), 9.
- Cardinali, D. P., Freire, F. (1975). Melatonin effects on brain. Interaction with microtubule protein, inhibition of fast axoplasmic flow and induction of crystalloid and tubular formations in the hypothalamus. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2(5), 317-330.
- Cardinali, D. P., Catalá, J. J. J., & Barceló, E. J. S. (1994). *Introducción a la cronobiología: fisiología de los ritmos biológicos*. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Cantabria. Caja Cantabria.
- Cardinali, D. P., Pagano, E. S., Scacchi Bernasconi, P. A., Reynoso, R., & Scacchi, P. (2011). Disrupted chronobiology of sleep and cytoprotection in obesity: possible therapeutic value of melatonin. *Neuro Endocrinol Lett*, 32(5), 588-606.

Carrillo-Vico, A., Reiter, R. J., Lardone, P. J., Herrera, J. L., Fernández-Montesinos, R., Guerrero, J. M., & Pozo, D. (2006). The modulatory role of melatonin on immune responsiveness. *Current opinion in investigational drugs*, 7(5), 423.

Cerea, G., Vaghi, M., Ardizzoia, A., Villa, S., Bucovec, R., Mengo, S., Gardani, G., Tancini, G. & Lissoni, P. (2003). Biomodulation of cancer chemotherapy for metastatic colorectal cancer: a randomized study of weekly low-dose irinotecan alone versus irinotecan plus the oncostatic pineal hormone melatonin in metastatic colorectal cancer patients progressing on 5-fluorouracil-containing combinations. *Anticancer research*, 23(2C), 1951-1954.

Cerro, A. V., & González, C. A. (2017). Perspectivas terapéuticas de la melatonina en el tratamiento del cáncer de mama. Repositorio Unican.

Chuffa, L. G. A., Amorim, J. P., Teixeira, G. R., Mendes, L. O., Fioruci, B. A., Pinheiro, P. F., Seiva, F., Novelli, E., de Mello Junior, W., Martinez, M & Almeida-Francia, C. C. (2011). Long-term exogenous melatonin treatment modulates overall feed efficiency and protects ovarian tissue against injuries caused by ethanol-induced oxidative stress in adult UChB rats. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 35(8), 1498-1508.

Cini, G., Neri, B., Pacini, A., Cesati, V., Sassoli, C., Quattrone, S., Quattrone, S., D'apolito, M., Fazio, A., Scapagnini, G., Provenzani, A. (2005). Antiproliferative activity of melatonin by transcriptional inhibition of cyclin D1 expression: a molecular basis for melatonin-induced oncostatic effects. *Journal of pineal research*, 39(1), 12-20.

Cos, S., & Sánchez-Barceló, E. J. (2000). Melatonin and mammary pathological growth. *Frontiers in neuroendocrinology*, 21(2), 133-170.

Cos, S., Álvarez-García, V., González, A., & Alonso-González, C. (2014). Melatonin modulation of crosstalk among malignant epithelial, endothelial and adipose cells in breast cancer. *Oncology letters*, 8(2), 487-492.

Cos, S., Fernandez, F., & Sanchez-Barcelo, E. J. (1996). Melatonin inhibits DNA synthesis in MCF-7 human breast cancer cells in vitro. *Life sciences*, 58(26), 2447-2453.

Cos, S., Fernández, R., Güézmés, A., & Sánchez-Barceló, E. J. (1998). Influence of melatonin on invasive and metastatic properties of MCF-7 human breast cancer cells. *Cancer research*, 58(19), 4383-4390.

Cos, S., González, A., Martínez-Campa, C., Mediavilla, M. D., Alonso-González, C., & Sánchez-Barceló, E. J. (2006). Estrogen-signaling pathway: a link between breast cancer and melatonin oncostatic actions. *Cancer detection and prevention*, 30(2), 118-128.

Darnell, J. E., Lodish, H. F., & Baltimore, D. (1990). *Molecular cell biology* (Vol. 2). New York: Scientific American Books.

Deng, W. G., Tang, S. T., Tseng, H. P., & Wu, K. K. (2006). Melatonin suppresses macrophage cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase expression by inhibiting p52 acetylation and binding. *Blood*, 108(2), 518-524.

Elmore, S. (2007). Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic pathology*, 35(4), 495-516.

Fares, A. (2011). Night-time exogenous melatonin administration may be a beneficial treatment for sleeping disorders in beta blocker patients. *Journal of cardiovascular disease research*, 2(3), 153-155.

Farriol, M., Venereo, Y., Orta, X., Castellanos, J. M., & Segovia-Silvestre, T. (2000). In vitro effects of melatonin on cell proliferation in a colon adenocarcinoma line. *Journal of Applied Toxicology: An International Journal*, 20(1), 21-24.

Georgiou, E. (1929). Über die Natur und die Pathogenese der Krebstumoren. *Zeitschrift für Krebsforschung*, 28(1), 562-572.

Gillette, M. U., & Tischkau, S. A. (1999). Suprachiasmatic nucleus: the brain's circadian clock. *Recent progress in hormone research*, 54, 33-60.

Hill, S. M., Belancio, V. P., Dauchy, R. T., Xiang, S., Brimer, S., Mao, L., ... & Frasch, T. (2015). Melatonin: an inhibitor of breast cancer. *Endocrine-related cancer*, 22(3), R183-R204.

Izaguirre Lasa, L. (2017). Melatonina y cáncer de mama.

Karasek, M., Kowalski, A. J., & Zylinska, K. (2000). Serum melatonin circadian profile in women suffering from the genital tract cancers. *Neuro endocrinology letters*, 21(2), 109-113.

Karbownik, M., Lewinski, A., & Reiter, R. J. (2001). Anticarcinogenic actions of melatonin which involve antioxidative processes: comparison with other antioxidants. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 33(8), 735-753.

Kelleher, F. C., Rao, A., & Maguire, A. (2014). Circadian molecular clocks and cancer. *Cancer letters*, 342(1), 9-18.

Khan, S., Heussler, H., McGuire, T., Dakin, C., Pache, D., Cooper, D., ... & Charles, B. (2011). Melatonin for non-respiratory sleep disorders in visually impaired children. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (11).

Klein, D. C., Moore, R. Y., & Reppert, S. M. (Eds.). (1991). *Suprachiasmatic nucleus: the mind's clock*. Oxford University Press, USA.

Kostoglou-Athanassiou, I. (2013). Therapeutic applications of melatonin. *Therapeutic advances in endocrinology and metabolism*, 4(1), 13-24.

Kubatka, P., Zubor, P., Busselberg, D., Kwon, T. K., Adamek, M., Petrovic, D., ... & Danko, J. (2018). Melatonin and breast cancer: Evidences from preclinical and human studies. *Critical reviews in oncology/hematology*, 122, 133-143.

León, J., Casado, J., Jiménez Ruiz, S. M., Zurita, M. S., González-Puga, C., Rejón, J. D., ... & Ruiz-Extremera, A. (2014). Melatonin reduces endothelin-1 expression and secretion in colon cancer cells through the inactivation of FoxO-1 and NF- κ B. *Journal of pineal research*, 56(4), 415-426.

Lerner, A. B., Case, J. D., Takahashi, Y., Lee, T. H., & Mori, W. (1958). Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocyteS1. *Journal of the American Chemical Society*, 80(10), 2587-2587.

Lissoni, P., Barni, S., Mandala, M., Ardizzoia, A., Paolorossi, F., Vaghi, M., ... & Tancini, G. (1999). Decreased toxicity and increased efficacy of cancer chemotherapy using the pineal hormone melatonin in metastatic solid tumour patients with poor clinical status. *European Journal of Cancer*, 35(12), 1688-1692.

Macías, M., Escames, G., Leon, J., Coto, A., Sbihi, Y., Osuna, A., & Acuña-Castroviejo, D. (2003). Calreticulin–melatonin: An unexpected relationship. *European journal of biochemistry*, 270(5), 832-840.

Mediavilla, M. D., Güezmez, A., Ramos, S., Kothari, L., Garijo, F., & Barcelo, E. S. (1997). Effects of melatonin on mammary gland lesions in transgenic mice overexpressing N-rasproto-oncogene. *Journal of pineal research*, 22(2), 86-94.

Mediavilla, M.D. , J Sanchez-Barcelo, E., X Tan, D., Manchester, L., & J Reiter, R. (2010). Basic mechanisms involved in the anti-cancer effects of melatonin. *Current medicinal chemistry*, 17(36), 4462-4481.

Mungenast, F., & Thalhammer, T. (2014). Estrogen biosynthesis and action in ovarian cancer. *Frontiers in endocrinology*, 5, 192.

Petranka, J., Baldwin, W., Biermann, J., Jayadev, S., Barrett, J. C., & Murphy, E. (1999). The oncostatic action of melatonin in an ovarian carcinoma cell line. *Journal of pineal research*, 26(3), 129-136.

Proietti, S., Cucina, A., Reiter, R. J., & Bizzarri, M. (2013). Molecular mechanisms of melatonin's inhibitory actions on breast cancers. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 70(12), 2139-2157.

Reiter, R. J., Tan, D. X., Sainz, R. M., Mayo, J. C., & Lopez-Burillo, S. (2002). Melatonin: reducing the toxicity and increasing the efficacy of drugs. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 54(10), 1299-1321.

Roa, I., & del Sol, M. (2014). Morfología de la Glándula Pineal: Revisión de la Literatura. *International Journal of Morphology*, 32(2), 515-521.

Sainz, R. M., Mayo, J. C., Tan, D. X., León, J., Manchester, L., & Reiter, R. J. (2005). Melatonin reduces prostate cancer cell growth leading to neuroendocrine differentiation via a receptor and PKA independent mechanism. *The Prostate*, 63(1), 29-43.

Sánchez-Barceló, E. J., Cos, S., Mediavilla, D., Martínez-Campa, C., González, A., & Alonso-González, C. (2005). Melatonin–estrogen interactions in breast cancer. *Journal of pineal research*, 38(4), 217-222.

Sauer, L. A., Dauchy, R. T., & Blask, D. E. (2001). Polyunsaturated fatty acids, melatonin, and cancer prevention1. *Biochemical pharmacology*, 61(12), 1455-1462.

Sharma, R., Ottenhof, T., Rzeczkowska, P. A., & Niles, L. P. (2008). Epigenetic targets for melatonin: induction of histone H3 hyperacetylation and gene expression in C17. 2 neural stem cells. *Journal of pineal research*, 45(3), 277-284.

Slominski, A. T., Zmijewski, M. A., & Jetten, A. M. (2016). ROR α is not a receptor for melatonin. *BioEssays: news and reviews in molecular, cellular and developmental biology*, 38(12), 1193.

Srinivasan, V., Spence, D. W., Pandi-Perumal, S. R., Trakht, I., & Cardinali, D. P. (2008). Therapeutic actions of melatonin in cancer: possible mechanisms. *Integrative cancer therapies*, 7(3), 189-203.

Tordjman, S., Chokron, S., Delorme, R., Charrier, A., Bellissant, E., Jaafari, N., & Fougere, C. (2017). Melatonin: pharmacology, functions and therapeutic benefits. *Current neuropharmacology*, 15(3), 434-443.

Vanecek, J. (1998). Cellular mechanisms of melatonin action. *Physiological reviews*, 78(3), 687-721.

Venegas Maldonado, C. J. (2013). *Estudio de los mecanismos de regulación de la síntesis, distribución y efectos de la melatonina extrapineal*. Universidad de Granada.

Voigt, R. M., Forsyth, C. B., & Keshavarzian, A. (2013). Circadian disruption: potential implications in inflammatory and metabolic diseases associated with alcohol. *Alcohol research: current reviews*, 35(1), 87.

Wai, L. K. (2004). Telomeres, telomerase, and tumorigenesis--a review. *Medscape General Medicine*, 6(3).

Wehr, T. A. (2001). Photoperiodism in humans and other primates: evidence and implications. *Journal of Biological Rhythms*, 16(4), 348-364.

Yerneni, L. K. (2003). Pharmacological action of high doses of melatonin on B16 murine melanoma cells depends on cell number at time of exposure. *Melanoma research*, 13(2), 113-117.