



FACULTAD DE MEDICINA  
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

**GRADO EN MEDICINA**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**MELATONINA COMO ADYUVANTE EN CÁNCER**

MELATONIN AS ADJUVANT IN CANCER

**Autora: Amaia Yuan Ibarгойen Aira**

**Director: Samuel Cos Corral**

**Santander, Junio 2022**

# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	<b>1</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>1</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>2</b>
<b>METODOLOGÍA</b> .....	<b>2</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>3</b>
HISTORIA Y HOMEOSTASIS .....	3
GLÁNDULA PINEAL.....	3
SÍNTESIS, SECRECIÓN, TRANSPORTE Y METABOLISMO DE LA MELATONINA.....	5
REGULACIÓN DE LA SÍNTESIS DE MELATONINA .....	7
MECANISMO DE ACCIÓN .....	9
ACCIONES DE LA MELATONINA .....	10
<b>ACCIONES DE LA MELATONINA SOBRE DIFERENTES TIPOS DE TUMORES</b> .....	<b>12</b>
EPIDEMIOLOGÍA.....	12
MECANISMOS DE CARCINOGENESIS.....	12
TRATAMIENTOS DISPONIBLES .....	12
ACCIÓN SOBRE DIFERENTES TIPOS DE TUMORES.....	13
<b>MECANISMOS DE LOS EFECTOS ANTITUMORALES DE LA MELATONINA</b> .....	<b>17</b>
ACCIONES ANTIESTROGÉNICAS DE LA MELATONINA .....	17
MODULACIÓN DEL CICLO CELULAR: PROLIFERACIÓN, DIFERENCIACIÓN Y APOPTOSIS .....	19
INHIBICION DE LA ACTIVIDAD DE LA TELOMERASA.....	20
EFECTOS ANTIOXIDANTES.....	21
ANTIANGIOGÉNESIS.....	21
PREVENCIÓN DE LA DISRUPCIÓN DE LOS RITMOS CIRCADIANOS .....	22
INHIBICIÓN DE LAS METÁSTASIS.....	22
EFECTOS INMUNOESTIMULANTES.....	22
FACTORES EPIGENÉTICOS .....	23
TRANSPORTE Y METABOLISMO DE ÁCIDOS GRASOS.....	23
<b>MELATONINA COMO ADYUVANTE EN EL CÁNCER</b> .....	<b>24</b>
MELATONINA Y QUIMIOTERAPIA .....	24
MELATONINA Y RADIOTERAPIA .....	31
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>35</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>36</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>37</b>

## RESUMEN

La melatonina es el principal producto de secreción de la glándula pineal, siendo su función clásica la sincronización de los ritmos circadianos con la luz ambiental. Sin embargo, en las últimas décadas se han llevado a cabo estudios que han demostrado múltiples acciones de la melatonina, entre ellas, sus efectos antitumorales. La mayoría de estos efectos han sido investigados en tumores hormono-dependientes, principalmente en el cáncer de mama. Entre los diferentes mecanismos antitumorales de la melatonina destacan el efecto antioxidante, la inhibición de la angiogénesis, las acciones antiestrogénicas y la modulación del ciclo celular. El objetivo del presente trabajo es revisar y describir diferentes estudios *in vitro*, *in vivo* y ensayos clínicos sobre los efectos beneficiosos de la melatonina como agente adyuvante de la terapia antitumoral convencional basada fundamentalmente en quimioterapia y radioterapia. Las investigaciones han demostrado que la melatonina presenta efectos beneficiosos sobre los pacientes con cáncer avanzado, observándose un aumento en la supervivencia y la tasa de regresión tumoral junto con una disminución de los efectos secundarios de los tratamientos convencionales.

**Palabras clave:** melatonina, cáncer, acciones antitumorales, adyuvante.

## ABSTRACT

Melatonin is the main hormone secreted by the pineal gland. Classic function of this hormone is to synchronize circadian and circannual rhythms with ambient light. However, in last decades, many papers have described the role of melatonin as an antitumoral agent. Mostly, these effects have been studied in hormone-dependent tumors such as breast cancer. Among melatonin antitumoral actions, these are the ones that stand out the most: antioxidative action, inhibition of angiogenesis, antiestrogenic actions and cell cycle modulation. The objective of the present work is to make a revision and describe the different mechanisms through which melatonin exerts its actions as an adjuvant for the conventional antitumoral treatments based on chemotherapy and radiotherapy. The different studies have confirmed that melatonin exerts beneficial effects in patients with advanced cancers, showing increase in survival time and tumor regression rate with lower adverse effects secondary to conventional treatments.

**Key Words:** melatonin, cancer, antitumoral effects, adjuvant.

## **OBJETIVOS**

El objetivo principal de este trabajo es revisar el papel de la melatonina como adyuvante del tratamiento antitumoral, principalmente quimioterapia y radioterapia. 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, analizaremos las acciones de la melatonina sobre diferentes tipos de tumores y el mecanismo antitumoral subyacente. Finalmente, realizaremos una revisión actualizada de la literatura centrándonos en la melatonina como adyuvante en el cáncer, principalmente con quimioterapia y radioterapia.

## **METODOLOGÍA**

Para el desarrollo del trabajo, hemos realizado una revisión bibliográfica de la literatura utilizando diferentes bases de datos, principalmente PubMed. Asimismo, hemos seleccionado diversos artículos publicados en revistas científicas de alto impacto como *Journal of Pineal Research*, *Cancer Research*, *Journal of Neuroendocrinology* o *New England Journal of Medicine*, así como libros y fuentes de soporte digital.

Para realizar la búsqueda bibliográfica se han empleado las palabras clave: melatonina, glándula pineal, cáncer, estrógenos, antioxidante, antiangiogénico, adyuvante.

# INTRODUCCIÓN

## HISTORIA Y HOMEOSTASIS

El uso del término *teleología* se remonta a la Grecia Antigua de mano de Aristóteles. Este hace referencia al propósito u objetivo como la razón de algo, dando importancia a la “causa final” de las cosas<sup>1</sup>. Basado en esta doctrina, el considerado como “padre de la fisiología moderna”, Claude Bernard (1813-1878), desarrolló la teoría de la constancia del medio interno (*milieu intérieur*) y refirió lo siguiente: “*All the vital mechanisms, however varied they might be, always have one purpose, that of maintaining the integrity of the conditions of life within the internal environment*”<sup>2</sup>. En la misma línea, el fisiólogo estadounidense Walter B. Cannon (1871-1945) acuñó el término “homeostasis” en 1926 para referirse a los mecanismos fisiológicos encargados de mantener la constancia del medio interno de la que hablaba Claude Bernard<sup>1</sup>. Los mecanismos homeostáticos eran tradicionalmente considerados reactivos, ya que iniciaban la corrección en respuesta a un estímulo o a una perturbación del sistema. Sin embargo, Moore-Ede introdujo el término homeostasis predictiva en 1986 haciendo referencia a una respuesta que tiene lugar antes de haberse producido la alteración del medio. Un ejemplo de homeostasis reactiva es el sistema circadiano<sup>3</sup>.

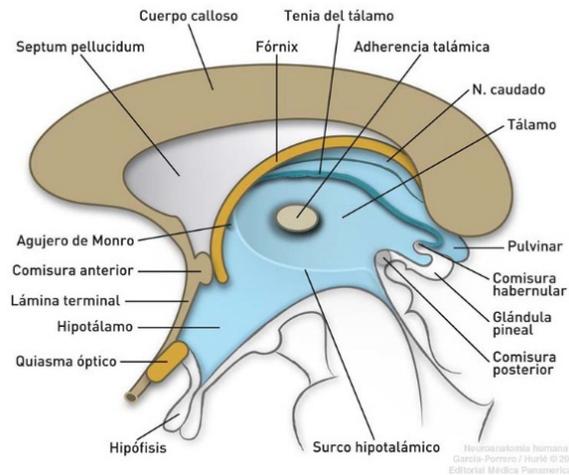
El sistema circadiano es la predicción de la variable ambiental y la preparación anticipada de la respuesta fisiológica, siempre que la variable tenga el carácter de periódica. Como regulador principal de este sistema, encontramos la melatonina, producida por la glándula pineal o epífisis en respuesta a la oscuridad<sup>3</sup>.

## GLÁNDULA PINEAL

A lo largo de la historia, la glándula pineal ha constituido un verdadero enigma anatómico. La primera mención expresa a la glándula la encontramos en la Antigüedad clásica helénica de mano de Herófilo de Calcedonia (325-280 a.C.) y Erasístrato de Ceos (310-250 a.C.), ambos integrantes de la Escuela de Alejandría. Sin embargo, la primera descripción detallada del órgano fue obra de Claudio Galeno (131-200). Pasó el tiempo hasta que, en el siglo XVII, René Descartes (1596-1650) la denominó “la sede del alma” o “*conarium*” presentándola como una especie de transductor de señales, a modo de centro de integración sensorial y de relación con el mundo exterior. Aunque la descripción del órgano era más espiritual que fisiológica, podemos ver que se trata de una hipótesis metafísica de la realidad científica actual<sup>4</sup>.

La glándula pineal, epífisis o “excrecencia superior” es un órgano de secreción interna cuya función principal es actuar como un transductor neuroendocrino entre las señales lumínicas atmosféricas y el control del ritmo circadiano. Es decir, informa al organismo sobre la duración relativa del día y la noche<sup>3</sup>.

Situamos a la glándula pineal dentro del cerebro como parte del epitálamo. Su origen embriológico parte de una evaginación neuroepitelial del techo del diencefalo que tiene lugar durante el segundo mes del feto. Se encuentra por debajo del esplenio del cuerpo calloso (Figura 1). Esta es una zona estratégica para la función que tiene que desempeñar de regulación de la homeostasis, ya que está en estrecha relación con el tercer ventrículo, hipotálamo e hipófisis. Tiene una longitud aproximada de 8 mm y un peso de 100-200 mg<sup>3</sup>.



**Figura 1.** Localización de la glándula pineal. Sección sagital esquemática del encéfalo a nivel de la región diencefálica para mostrar las paredes del tercer ventrículo. (Tomado de García-Porrero J.A., Hurlé J.M. 2015<sup>5</sup>).

Al contrario de lo que cabría pensar debido a su pequeño tamaño (se puede comparar con el tamaño de una lenteja), la epífisis recibe uno de los aportes sanguíneos más abundantes de todo el organismo, siendo superado únicamente por el aporte sanguíneo renal.

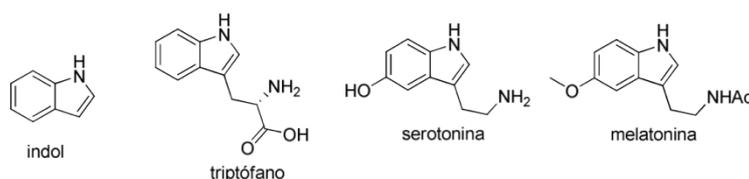
Histológicamente, la glándula pineal está compuesta por unas células llamadas pinealocitos, que suponen el 80% de su masa total. Los pinealocitos son unas neuronas un poco especiales, ya que, en vez de hacer sinapsis con otras neuronas, liberan a los vasos sanguíneos productos de secreción. Por ello, son conocidas como neuronas neurosecretoras. El 20% restante de la glándula lo componen el paquete vasculonervioso y las células de la glía. A medida que pasan los años, la glándula parece sufrir un proceso de calcificación, aunque todavía se desconoce si este implica una pérdida de función<sup>3</sup>.

## SÍNTESIS, SECRECIÓN, TRANSPORTE Y METABOLISMO DE LA MELATONINA

### Síntesis de melatonina

La hormona melatonina fue descrita por Lerner en 1958 a partir del tejido de la glándula pineal bovina. En un principio, se le adjudicó una función de aclaramiento de tejidos de la piel de renacuajos, ya que contraía los melanóforos de la piel de los anfibios. Fue en la década de los 60 cuando Hofmann y Reiter observaron una variación en la capacidad reproductiva de los mamíferos dependiendo de la época del año, y postularon que, esta variación podría estar relacionada con las alternancias en las concentraciones plasmáticas de melatonina<sup>6</sup>.

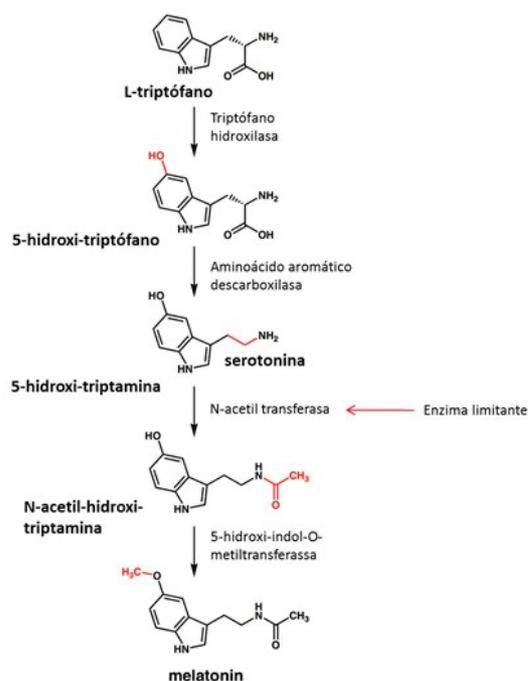
La melatonina no es la única sustancia secretada por la glándula pineal, se han encontrado otras muchas (vasopresina, oxitocina, somatostatina...). Sin embargo, hoy en día se considera que la función principal de la glándula es la secreción de melatonina, también conocida como N-acetil-5-metoxitriptamina (Figura 2). Por otro lado, la melatonina no solo se sintetiza en la glándula pineal, también podemos encontrar otros órganos como la retina o el intestino capaces de producirla, aunque en estos casos, su acción es exclusivamente local<sup>3</sup>.



**Figura 2.** Estructura química del triptófano, serotonina y melatonina, compuestos que contienen un grupo indol (Tomado de Collado D. 2014<sup>7</sup>).

La síntesis de melatonina comienza con el triptófano. El triptófano es captado por los pinealocitos a través de un mecanismo de transporte activo. Una vez dentro, en las mitocondrias, el aminoácido sufre una reacción de hidroxilación mediada por la enzima triptófano hidroxilasa que da lugar al compuesto 5-hidroxitriptófano. A partir de éste, una vez en el citosol, la enzima L-aminoácido aromático descarboxilasa, sintetiza la 5-hidroxitriptamina, mejor conocida como serotonina. Las concentraciones más altas de serotonina de todo el organismo se encuentran en la glándula pineal<sup>3</sup>.

La síntesis de melatonina, por tanto, deriva de la serotonina. Para llevar a cabo esta reacción, es necesaria la actividad de dos enzimas: la enzima limitante del proceso N-acetil-transferasa (NAT) y la hidroxindol-O-metiltransferasa (HIOMT). El primer compuesto que se obtiene de la acetilación de la 5-hidroxitriptamina es la N-acetil-serotonina, al cual se le transfiere un grupo metilo donado por la S-adenosilmetionina en la posición 5-hidroxi obteniendo como producto la N-acetil-5-metoxitriptamina<sup>3</sup> (Figura 3).



**Figura 3.** Ruta biosintética de la melatonina (Tomado de Argüelles R, Bonmatí-Carrion MA. 2015<sup>6</sup>).

### Secreción y transporte

La melatonina se secreta a la sangre por difusión simple. Debido a su carácter liposoluble e hidrosoluble, goza de la capacidad de atravesar las membranas y barreras del organismo con facilidad, incluyendo la barrera placentaria y la barrera hematoencefálica. Sin embargo, el 80% de la melatonina circulante se transporta unida a la albúmina, y solo el 20% lo hace de forma libre<sup>3</sup>.

### Metabolismo

Cerca del 90% de la melatonina circulante se metaboliza en el hígado mediante dos reacciones. Primero, la enzima citocromo P450 CYP1A2 hidroxila la melatonina dando lugar a 6-hidroximelatonina, un metabolito inactivo. A continuación, la 6-hidroximelatonina sufre un proceso de conjugación con ácido sulfúrico en su mayoría (70-80%) o con ácido glucurónico (5-30%)<sup>8</sup>. El metabolito final, 6-sulfatoximelatonina, se elimina por orina.

El metabolismo de la melatonina es muy rápido. La vida media de eliminación tras una administración oral es de 30-50 minutos, mientras que, si se administra por vía intravenosa, la vida media es de 0,5 a 5,6 minutos. Debido a que la hormona no se almacena en el organismo y que existe una gran variabilidad de los niveles a lo largo del día, es difícil obtener unos niveles plasmáticos estables mediante la medición de melatonina plasmática, y por eso se mide la concentración urinaria de 6-sulfatoximelatonina, su principal metabolito. También se puede calcular mediante la concentración plasmática de la 6-hidroximelatonina<sup>8</sup>.

Otra pequeña parte de la melatonina es metabolizada en el SNC dando lugar a N-formil-5-metoxiquinurenamina y N-acetil-5-metoxiquinurenamina, compuestos de acción biológica comprobada<sup>3</sup>. Por último, alrededor del 0,5-1% se excreta en orina de forma libre<sup>3</sup>.

## REGULACIÓN DE LA SÍNTESIS DE MELATONINA

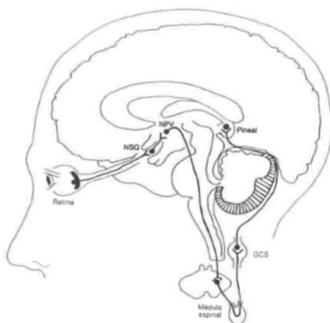
La síntesis y secreción de melatonina sigue un ritmo circadiano, es decir, sus concentraciones plasmáticas varían de forma regular en un periodo de tiempo de 24 horas. Estas variaciones dependen de la alternancia ambiental luz-oscuridad, con un pico máximo nocturno (2-6 a.m.) de 100-200 pg/ml y unos niveles diurnos aproximadamente de 10-30 pg/ml<sup>3</sup>.

Estas oscilaciones se deben a la rápida estimulación de la actividad nocturna de la enzima encargada de la síntesis de melatonina, la SNAT. Durante el día, la SNAT está inhibida, pero cuando comienza el periodo de oscuridad, su actividad aumenta rápidamente, sintetizando melatonina a partir de la serotonina<sup>8</sup>. A diferencia de la SNAT, la enzima HIOMT está activa de manera constitutiva. Como podemos observar, la melatonina está estrechamente ligada a la nocturnidad, por lo que, también es conocida como la “*hormona de la oscuridad*”<sup>3</sup>.

Clásicamente, la inervación simpática de la glándula pineal ha sido el principal regulador de la síntesis de melatonina. Sin embargo, hoy en día, se acepta la participación de diversos mecanismos, construyendo así un modelo más complejo. En primer lugar, haremos un repaso de la regulación neural, para después comentar el nuevo modelo de control multifactorial.

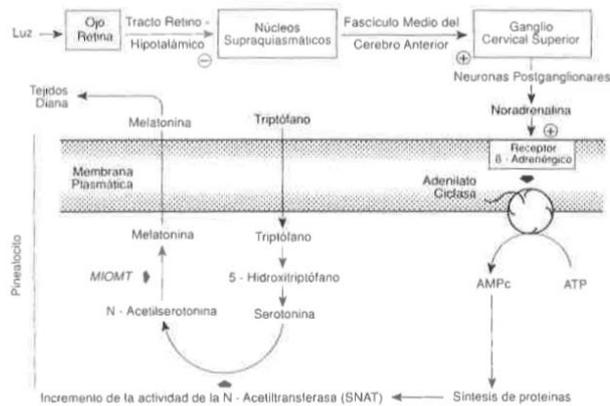
### Regulación neural

Durante el día, la estimulación lumínica incide sobre los fotorreceptores de la retina, que mandan la información al núcleo supraquiasmático del hipotálamo a través del tracto retino-hipotalámico. A continuación, la información viaja hasta la columna intermediolateral de la médula espinal, donde hace sinapsis con las neuronas del GCS que emite fibras postsinápticas para dar inervación simpática a la glándula pineal<sup>3</sup> (Figura 4).



**Figura 4.** Localización de la glándula pineal en el encéfalo humano y vía de transmisión de la información luminosa. NSQ: Núcleos supraquiasmáticos; NPV: Núcleo paraventricular; GCS: Ganglio cervical superior (Tomado de Cardinali DP, Jorda Catalá JJ, Sánchez-Barceló EJ. 1994<sup>3</sup>).

Mientras la luz incide sobre la retina, las neuronas ganglionares del núcleo supraquiasmático se mantienen inhibidas. Cuando el estímulo lumínico cesa, estas neuronas liberan noradrenalina al terminal sináptico que se une a los receptores  $\beta_1$  de los pinealocitos. Los receptores  $\beta_1$  son unos receptores de membrana que activan a la adenilato ciclasa aumentando así los niveles intracelulares de AMPc y síntesis de RNA y proteínas. En última instancia, se activa la enzima SNAT, encargada de la síntesis de melatonina<sup>3</sup> (Figura 5).



**Figura 5.** Vía a través de la cual la información luminosa regula la síntesis de melatonina en la glándula pineal (Tomado de Cardinali D.P., Jorda Catalá JJ, Sánchez-Barceló E.J. 1994<sup>3</sup>).

El número de los receptores  $\beta_1$  varía a lo largo del día, con un aumento en la segunda mitad de la fase de luz, y un descenso a lo largo de la noche, una vez la estimulación adrenérgica ya se ha iniciado<sup>3</sup>.

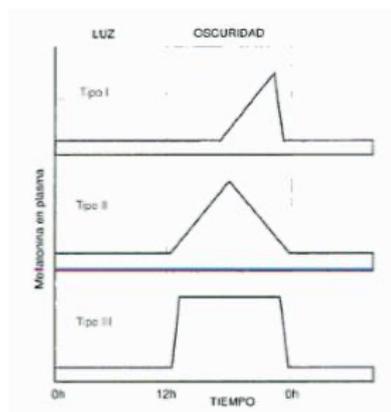
### Control multifactorial

Además de la innervación simpática de la glándula pineal, también participan otros mecanismos en su regulación. Entre ellos, se han encontrado receptores  $\alpha_1$  postsinápticos que potencian la actividad de los ya mencionados  $\beta_1$ . Por otro lado, se ha visto que existe una innervación pineal central que actúa a través de terminales de fibras peptidérgicas, colinérgicas y aminoacidérgicas que liberan neurotransmisores como glutamato, GABA, acetilcolina o benzodiazepinas, por ejemplo, para las cuales la glándula presenta sitios específicos de unión. Se ha identificado también un control paracrino mediado por el sistema gabaérgico. Por último, existe también un mecanismo de retroalimentación hormonal complementaria a la regulación neural. Esto explica que variaciones séricas de gonadotrofinas y esteroides ováricos produzcan cambios en la amplitud del ritmo de secreción de la melatonina<sup>3</sup>.

La amplitud del pico de melatonina se modifica dependiendo de algunas variables como la edad, la estación del año, el ciclo menstrual, el tiempo de exposición al sol, tipo de luz, algunas drogas y el estrés<sup>3</sup>.

## Patrones de secreción de la melatonina

Existen diferentes tipos de patrones de secreción de la melatonina. Los humanos seguimos un patrón de tipo 2, en el cual vemos un ascenso progresivo de los niveles de melatonina con el inicio del periodo de oscuridad hasta alcanzar un pico máximo a mitad del periodo seguido de un descenso paulatino hasta niveles mínimos con el inicio del periodo diurno<sup>3</sup> (Figura 6).



**Figura 6.** Diferentes patrones de secreción de la melatonina (Tomado de Cardinali D.P., Jorda Catalá J.J., Sánchez-Barceló E.J. 1994<sup>3</sup>).

## **MECANISMO DE ACCIÓN**

La melatonina ejerce sus efectos a través de dos mecanismos: dependiente de receptor e independiente de receptor<sup>9</sup>.

### Mecanismo dependiente de receptor

Los receptores pueden ser de membrana (MT1, MT2) o nucleares (ROR/RZR). Los receptores de tipo MT1 fueron aislados en los núcleos supraquiasmáticos, *pars tuberalis*, área postrema y retina de pollo, así como en el cerebro de hámster mediante el uso de 2-[<sup>125</sup>I]-iodomelatonina como ligando. Con esta misma sustancia, fueron identificados también los receptores MT2 en el hipotálamo, corteza cerebral, cerebelo e hipocampo. Los receptores de tipo MT1 presentan una afinidad por la melatonina en el rango picomolar, mientras que los de tipo MT2 presentan una afinidad mucho menor, en el rango nanomolar<sup>3,6</sup>.

Tanto MT1 como MT2 son receptores de membrana acoplados a proteínas G. Cuando se produce la unión ligando-receptor la proteína G ejerce un efecto inhibitorio sobre la adenilato ciclasa, disminuyendo así los niveles de AMPc. Esto, impediría la captación de ácido linoleico, lo que confiere a la melatonina efecto antiproliferativo<sup>6</sup>. Por otro lado, se ha visto que la melatonina aumenta los niveles de GMPc mediante estimulación la actividad de la guanilato ciclasa en ovario, testículo, tiroides, intestino e hígado<sup>3</sup>.

Existe un tercer tipo de receptor de membrana, MT3, que se localiza a nivel de la glándula pineal, con baja afinidad por la 2-[I<sup>125</sup>]-iodomelatonina, no unido a proteínas G y que no se ha identificado en humanos. A este receptor se le atribuyen funciones de quinona reductasa 2, por lo que actuaría como un agente protector frente al estrés oxidativo<sup>6</sup>.

La melatonina tiene facilidad para atravesar membranas, gracias a su carácter lipofílico. Esto le permite, entre otras cosas, unirse a receptores nucleares de la familia de los receptores del retinoide Z<sup>8</sup>.

Existe una colaboración entre los receptores de membrana y los nucleares que regulan la síntesis y expresión de varios enzimas<sup>9</sup>:

- Aumenta la síntesis de enzimas antioxidantes como la glutatión peroxidasa, glutatión reductasa, superóxido dismutasa y catalasa<sup>9</sup>.
- Disminuye la expresión de enzimas proinflamatorias como la óxido nítrico sintasa inducible (bloqueando así la liberación de glutamato para evitar el fenómeno de excitotoxicidad) y la ciclooxigenasa 2 (inhibiendo la liberación de PGE<sub>2</sub>)<sup>9</sup>.

#### Mecanismo independiente de receptor

La melatonina se puede unir a diferentes proteínas citoplasmáticas. Entre ellas se encuentran la calmodulina (mecanismo regulador del citoesqueleto) y la calreticulina (mecanismo regulador de la acción de diferentes hormonas en el núcleo celular)<sup>9</sup> Sin embargo, se considera que la principal diana intracelular de la melatonina es la mitocondria. Sobre ésta ejerce un papel antioxidante mediado por un aumento de los niveles de GSH, agente protector del estrés oxidativo. Además, disminuye el consumo de oxígeno, mantiene el control respiratorio, aumenta el ATP y disminuye la síntesis de radicales superóxido<sup>9</sup>.

## **ACCIONES DE LA MELATONINA**

Las principales acciones que lleva a cabo la melatonina son las siguientes<sup>3</sup>:

- Sincronización de los ritmos circadianos.
- Regulación del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal.
- Acción sobre otros órganos y glándulas endocrinas.
- Efecto antioxidante.
- Efecto antiinflamatorio y estimulación del sistema inmune.
- Efecto antitumoral.

La melatonina sirve como un reloj y como un calendario, nos dice cuándo es de día y cuándo es de noche, cuándo es invierno y cuándo es verano. La melatonina secretada por la glándula pineal en respuesta a la alternancia luz-oscuridad, ejerce un estrecho

control sobre la sincronización de diferentes ritmos circadianos y circanuales como los ritmos reproductores de mamíferos con apareamiento estacional y los ritmos termorreguladores y locomotores de reptiles y aves. Tras una pinealectomía, la capacidad de reproducción estacional de estos animales se ve fuertemente alterada. En todo este proceso de control de los diferentes ritmos circadianos, los núcleos supraquiasmáticos juegan un papel principal<sup>3</sup>.

El incremento vespertino en la secreción de melatonina se encuentra asociado con el desencadenamiento del sueño. En los humanos, la melatonina es capaz de sincronizar el ritmo sueño-vigilia en sujetos ciegos y de mejorar los síntomas derivados de los viajes transmeridianos (“jet-lag”)<sup>3</sup>.

Sobre el sistema reproductor, se ha visto que alteraciones en los niveles de melatonina pueden provocar un adelanto de la pubertad, en caso de déficit, o un retraso de esta, en caso de exceso. La melatonina es capaz de alterar el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal de la siguiente manera: disminuye la liberación de GnRH hipotalámica, de gonadotrofinas y prolactina hipofisarias y de esteroides gonadales. Se ha visto que en los días que preceden a la ovulación, los picos de melatonina son más bajos. Por lo tanto, los niveles bajos de melatonina podrían ejercer un efecto permisivo sobre la ovulación<sup>3</sup>.

Entre las acciones sobre las glándulas endocrinas, la melatonina inhibe la función tiroidea, suprarrenal y pancreática. Además, ejerce efectos directos sobre la mama, ya que se ha visto que disminuye el crecimiento y desarrollo mamario y que presenta una acción oncostática sobre células tumorales de mama in vitro (MCF-7)<sup>3</sup>.

Por último, la melatonina parece que ejerce su función antiinflamatoria revirtiendo los procesos mitocondriales desencadenados por la inflamación. En una situación proinflamatoria, como puede ser la sepsis, se activan la enzima mitocondrial iNOS (óxido nítrico sintasa inducible) con un aumento de producción del producto anión peroxinitrito, lesión oxidativa/nitrosativa y disminución de los niveles de GSH (glucagón reducido). Todo ello en su conjunto resulta en una depleción de ATP. La melatonina es capaz de restaurar la normal función de la mitocondria en estas situaciones<sup>9</sup>.

# ACCIONES DE LA MELATONINA SOBRE DIFERENTES TIPOS DE TUMORES

## EPIDEMIOLOGÍA

El cáncer es la segunda causa de muerte a nivel mundial con casi 10 millones de fallecimientos en 2020. La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) anticipa que en 2040 el número de casos nuevos de cáncer por año aumentará a 29,5 millones y el número de muertes por cáncer a 16,4 millones. Los tipos de cáncer más frecuentes son el cáncer de pulmón, próstata y colorrectal en el varón, y el cáncer de mama, colorrectal y de pulmón en la mujer <sup>10</sup>.

## MECANISMOS DE CARCINOGENÉISIS

El cáncer se define como un grupo de enfermedades caracterizadas por un crecimiento descontrolado y la capacidad de diseminación de las células tumorales, que a menudo llevan a la muerte del paciente.

El mecanismo de carcinogénesis se basa en lo siguiente<sup>11</sup>:

- 1) Proliferación ilimitada.
- 2) Falta de respuesta a señales anti-crecimiento.
- 3) Resistencia a la apoptosis.
- 4) Activación de genes de invasión y metástasis.
- 5) Angiogénesis.
- 6) Inestabilidad genética.
- 7) Desregulación de la actividad energética celular.
- 8) Inflamación protumoral.
- 9) Evasión de la respuesta inmune.

## TRATAMIENTOS DISPONIBLES

La principal herramienta terapéutica contra el cáncer sigue siendo la cirugía, que puede combinarse con otras estrategias como la quimioterapia, radioterapia, nanoterapia o inmunoterapia. Sin embargo, el desarrollo de resistencias y la toxicidad de las drogas utilizadas suponen un gran obstáculo a la hora de su utilización, por eso es necesario invertir en el desarrollo de nuevas opciones terapéuticas. Recientemente, se ha señalado a la melatonina como posible agente preventivo e incluso terapéutico del cáncer <sup>11</sup>.

## **ACCIÓN SOBRE DIFERENTES TIPOS DE TUMORES**

### CÁNCER DE PULMÓN

El cáncer de pulmón ha sido durante muchos años la principal causa de incidencia y mortalidad de cáncer en ambos sexos. Varios estudios han descrito la participación de la melatonina en el cáncer de pulmón.

Los receptores de la melatonina MT1 y MT2 juegan un papel fundamental en la capacidad de supresión tumoral de la melatonina. Un estudio demostró que la expresión de ambos receptores era mayor en tejido de cáncer no-microcítico de pulmón que en tejido no tumoral. La unión de la melatonina con el receptor tipo MT1 inhibe la transición epitelio-mesenquimal alterando así la actividad de varios factores de transcripción. Esto resulta en una supresión de la capacidad metastásica de las células tumorales<sup>12,13</sup>. Además, la melatonina previene la diseminación metastásica por otras vías, como la inducción de la apoptosis, efecto antiproliferativo, efectos pro-oxidantes y anti-inflamatorio<sup>14</sup>.

### CÁNCER DE MAMA

El cáncer de mama fue en España, según los datos aportados por El Sistema Europeo de Información del Cáncer (ECIS), el tipo de tumor más frecuente entre las mujeres en el año 2020. El cáncer de mama es ya el tumor más diagnosticado del mundo, superando por primera vez al cáncer de pulmón. El principal factor de riesgo para desarrollar la enfermedad es la exposición prolongada a los estrógenos y el mejor método preventivo es la lactancia materna.

Tamarkin et al<sup>15</sup> observaron que el pico nocturno de concentración plasmática de melatonina era menor en pacientes con cáncer de mama ER positivo (receptor de estrógenos), demostrando así que existe una correlación negativa entre los niveles de ER y el pico nocturno de melatonina plasmática. La melatonina inhibe la síntesis de estrógenos mediante la inhibición de la actividad de la aromatasa, enzima necesaria para la síntesis de éstos<sup>16</sup>.

Goyal et al<sup>17</sup> encontraron una correlación positiva entre los niveles de expresión del receptor de melatonina MT1 y la expresión de los receptores ER, PR y HER 2. Tumores con receptores hormonales positivos presentaban niveles mayores de MT1 que los tumores triple negativos. Estos resultados sugieren que el nivel de expresión de los receptores MT1 se podrían utilizar como indicadores patológicos para evaluar el cáncer de mama. Menéndez-Menéndez y Martínez Campa propusieron a la melatonina como un agente antitumoral en tumores hormono-dependientes gracias a su capacidad para modular la expresión de factores de transcripción mediados por estrógenos<sup>17</sup>.

Blask et al<sup>18</sup> propusieron que la melatonina a concentraciones fisiológicas es capaz de inhibir el crecimiento de las células MCF-7, no así a dosis suprafisiológicas o subfisiológicas. Tampoco observaron esta capacidad inhibitoria en precursores o metabolitos de la melatonina. La administración secuencial de melatonina junto con

ácido retinoico sobre células MCF-7 ER positivas resultó en un cese total de su crecimiento.

Asimismo, se ha visto que la melatonina reduce la capacidad invasiva de las células MCF-7, disminuyendo su adhesividad y motilidad. Concentraciones nanomolares de melatonina inhiben la proliferación de las células MCF-7 mediante la estimulación de la expresión de la proteína supresora de tumores p53 y la proteína p21WAF1, contrarrestando así los efectos estimulantes del estradiol en la capacidad metastásica de las células<sup>19</sup>.

Por otro lado, la melatonina modula la expresión de los miRNA y genes relacionados con su expresión, siendo esta otra forma de inhibir el crecimiento del cáncer de mama<sup>20</sup>. Se ha investigado también sobre los efectos antiangiogénicos de la melatonina y su capacidad regulatoria sobre el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Los resultados han mostrado que la melatonina inhibe el proceso de angiogénesis mediante la disminución de la síntesis del factor VEGF en las células MCF-7 en condiciones de hipoxia<sup>21</sup>.

Por último, un estudio llevado a cabo por Hadadi et al<sup>22</sup> mostró el impacto de la disrupción del ritmo circadiano en varios tipos de neoplasias (cáncer de mama, cáncer de ovario y cáncer de próstata) secundario a cambios en el microambiente del tumor como estimulación de efecto proinflamatorio e inhibición de la respuesta inmune.

## CÁNCER DE PRÓSTATA

El cáncer de próstata es el segundo tipo de cáncer más frecuente a nivel mundial y la quinta causa de muerte por cáncer en el varón<sup>10</sup>. Entre los factores de riesgo más importantes está la obesidad. Sin embargo, a pesar del incremento en el número de casos, la tasa de mortalidad está en descenso gracias al diagnóstico y tratamiento precoces.

Un estudio de cohortes mostró que los varones con bajos niveles de 6-sulfatoximelatonina en la primera orina de la mañana presentaban un riesgo elevado de cáncer de próstata<sup>23</sup>. Asimismo, pacientes con niveles más altos de melatonina-sulfato presentaban menor riesgo de padecer cáncer de próstata<sup>24</sup>.

Concentraciones farmacológicas de melatonina pueden inhibir el crecimiento de cáncer de próstata hormono-dependiente e independiente<sup>25</sup>. La melatonina desarticula los receptores de andrógenos del núcleo al citoplasma inhibiendo así el estímulo proliferativo de los andrógenos sobre las células prostáticas<sup>26</sup>. Se considera que el efecto es mediado por los receptores MT1. Además, un estudio preclínico realizado en pacientes con cáncer de próstata reveló que la melatonina podía estabilizar los niveles de antígenos específicos de la próstata<sup>27</sup>.

Paroni et al<sup>28</sup> investigaron los efectos de la melatonina a concentraciones nanomolares *in vivo*, y comprobaron que la melatonina disminuye la expresión de Ki67 y estimula la expresión de HIF- $\alpha$ , restringiendo así la angiogénesis.

La melatonina es un potente antioxidante capaz de disminuir los niveles de ROS. Células tratadas con DHA (ácido docosaheptaenoico) mostraron niveles de ROS aumentados. Sin embargo, la administración conjunta de DHA y melatonina inhibió la proliferación de las células tumorales de cáncer de próstata<sup>29</sup>. Asimismo, la combinación de melatonina con radioterapia incrementó la supervivencia de los pacientes con mal pronóstico con cáncer de próstata<sup>30</sup>.

### CÁNCER COLORRECTAL

El cáncer colorrectal tiene una distribución global característica, es tres veces más frecuente en países desarrollados que en países en vías de desarrollo. Sin embargo, la tasa de mortalidad es parecida en ambos. Los principales factores de riesgo son la dieta, la obesidad, el sedentarismo y el estilo de vida. Los tratamientos disponibles incluyen la cirugía, quimioterapia, radioterapia, inmunoterapia y los tratamientos biológicos. Sin embargo, recientemente se ha empezado a considerar la melatonina como posible adyuvante terapéutico dada la evidencia de sus acciones anticancerígenas, antiinflamatorias y antioxidantes. Asimismo, la melatonina ha demostrado que tiene un papel fundamental en la supresión y control de la progresión del cáncer colorrectal.

Se ha visto que la melatonina es capaz de reducir la viabilidad de las células cancerígenas en presencia de un antagonista selectivo del receptor MT2 y que potencia la acción antiproliferativa y proapoptótica del ácido ursólico en células de cáncer de colon<sup>31,32</sup>.

### CÁNCER DE PIEL

El melanoma es el tipo de cáncer de piel más agresivo. El tratamiento convencional incluye la quimioterapia y la radioterapia, además de la cirugía. Sin embargo, la melatonina podría incluirse en el repertorio, debido a sus efectos oncostáticos.

En ratones con cáncer de piel inducido con benzopireno se vió que la melatonina era capaz de inhibir la unión del benzopireno al DNA, impidiendo así la carcinogénesis<sup>33</sup>. Otro estudio mostró que la melatonina inhibía la actividad de la Hsp70 y que de esta forma disminuía la inflamación y el daño en el DNA provocado por los rayos ultravioletas. Asimismo, la melatonina inhibe los efectos proinflamatorios y proapoptóticos que ejercen los rayos ultravioletas sobre los queratinocitos<sup>34</sup>. No solo la melatonina, sino también sus metabolitos, promueven la reparación del DNA y la expresión de la proteína p53 en los queratinocitos expuestos a UVB<sup>35</sup>.

### CÁNCER DE HÍGADO

Infecciones por el VHB, VHC, ingesta de alimentos que contienen aflatoxinas o el consumo excesivo de alcohol, son los principales factores de riesgo para el desarrollo de hepatocarcinoma. El cáncer de hígado es la cuarta causa más frecuente de mortalidad por cáncer, más frecuente en varones y en países desarrollados. Sin embargo, gracias a la vacunación contra el VHB el escenario ha cambiado en los últimos tiempos.

Un estudio *in vitro* que analizaba los efectos de la melatonina sobre la línea celular HepG2 de hepatocarcinoma humano mostró una disminución en la proliferación celular, y alteraciones en el ciclo celular, junto con un aumento en la expresión de las proteínas p53 y p21<sup>36</sup>. Otros estudios han mostrado que la melatonina puede inhibir la vía de proliferación mTOR/Akt y la expresión de COX-2 en células de cáncer de hígado<sup>37,38</sup>. La melatonina también ha demostrado ejercer un papel antiangiogénico en las células HepG2 mediante la supresión de la expresión del factor VEGF inducido por la activación de los factores HIF- $\alpha$  y STAT3<sup>39</sup>.

Por otro lado, un estudio reciente sugiere que los suplementos de melatonina podrían reducir el remodelado estructural y la disfunción hepática y mitocondrial en pacientes con esteatosis hepática no-alcohólica<sup>40</sup>.

### CÁNCER DE ENDOMETRIO Y CÁNCER DE OVARIO

Un estudio multicéntrico realizado en Australia sobre el cáncer de endometrio que incluía a 138 mujeres mostró unos niveles de melatonina disminuidos en las pacientes afectadas de la enfermedad en comparación con las participantes que no presentaban el tumor<sup>41</sup>. Otro estudio encontró diferencias significativas en los niveles de melatonina dependiendo del estadio del tumor, siendo menores en los casos más avanzados y en los tumores no diseminados aún. Concluyeron que los niveles de melatonina dependían del estadio del cáncer<sup>42</sup>.

La melatonina ha demostrado que puede inhibir la carcinogénesis en el cáncer de cérvix y cáncer de vagina inducidos con DMBA (agente carcinógeno) en ratones<sup>43</sup>.

Se han realizado estudios sobre las posibles implicaciones de la melatonina en el cáncer de ovario, ya que, debido a su alta mortalidad, la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos resulta imprescindible. Un estudio concluyó que la glándula pineal contiene potentes sustancias con efecto antitumoral demostrado para el cáncer de ovario y cáncer de mama, siendo una de las principales la melatonina<sup>44</sup>.

Se ha visto que la desregulación de los ritmos biológicos, sobre todo en personas que están expuestas a luz nocturna, promueve la carcinogénesis, teniendo especial influencia sobre los tumores ginecológicos. Para entender esta relación mejor, se han llevado a cabo varios estudios. Uno de ellos mostró que, los niveles de melatonina en pacientes con cáncer de ovario eran más bajos que en las mujeres sanas. Otro estudio realizado con animales mostró una reducción significativa del tamaño tumoral en los casos de cáncer de ovario y una disminución de la angiogénesis en respuesta a la melatonina<sup>45</sup>.

## **MECANISMOS DE LOS EFECTOS ANTITUMORALES DE LA MELATONINA**

En 1929 Georgiou postuló por primera vez la hipótesis de que la glándula pineal podría estar involucrada en el crecimiento y diseminación de las células tumorales. En 1977 Vera Lapin organizó el primer encuentro que trataba sobre el papel de la melatonina en el cáncer: “*The Pineal Gland as a New Approach to the Neuroendocrine Control Mechanism in Cancer*”, y un año después, en 1978, Cohen et al publicaron un artículo en la revista *The Lancet* exponiendo el papel de la melatonina en la etiología del cáncer. Según sus estudios, en situaciones donde evidenciaron una reducción en la secreción de melatonina se creaba un estado de hiperestrogenismo que contribuía al desarrollo del cáncer de mama<sup>46</sup>.

Hasta el momento, las dianas terapéuticas de la melatonina se han reducido a trastornos depresivos, “jet-lag” y alteraciones del ritmo sueño-vigilia. Sin embargo, está bien establecido que la melatonina posee propiedades oncostáticas sobre distintos tipos de tumores, especialmente en los hormono-dependientes. La mayoría de los trabajos que estudian las implicaciones de la melatonina en el cáncer son estudios *in vitro* sobre líneas celulares derivadas de tumores humanos (ej: MCF-7), aunque también se han llevado a cabo estudios *in vivo* con murinos con tumores inducidos. La conclusión es que la melatonina es capaz de inhibir el crecimiento y proliferación de las células tumorales y promover la apoptosis<sup>9</sup>.

Dentro de los numerosos efectos de la melatonina, los que han demostrado tener capacidad antitumoral son los siguientes: acciones antiestrogénicas, modulación del ciclo celular, inhibición de la telomerasa, antiangiogénesis, prevención de la disrupción de los ritmos circadianos, inhibición de las metástasis, efectos inmunoestimulantes, factores epigenéticos, transporte y metabolismo de ácidos grasos<sup>9</sup>.

### **ACCIONES ANTIESTROGÉNICAS DE LA MELATONINA**

La melatonina es una molécula que tiene la capacidad de actuar como SEEM y SERM (*Selective Estrogen Enzyme Modulators* y *Selective Estrogen Receptor Modulators*). Las acciones antiestrogénicas de la indolamina se deben a estos dos principales mecanismos.

#### Regulación de la expresión y activación de los receptores de estrógenos

Las principales acciones antitumorales de la melatonina se han estudiado sobre el cáncer mama (adenocarcinoma de mama), cáncer de próstata y cáncer de ovario. La melatonina actúa sobre el receptor de estrógenos al igual que otros SERM como el tamoxifeno, anastrozol o letrozol. Sin embargo, su acción no depende de la unión al receptor ni a la modificación de la interacción de otros estrógenos a su receptor. Las acciones antiestrogénicas de la melatonina responden a su capacidad de disminuir la expresión del receptor de estrógenos mediante el bloqueo del factor de transcripción ER-alfa y la unión del complejo E<sub>2</sub>-ER (estrógenos-receptor de estrógenos) al elemento de respuesta de estrógenos (ERE) situado en el DNA<sup>47,48</sup>. Este efecto ha sido estudiado

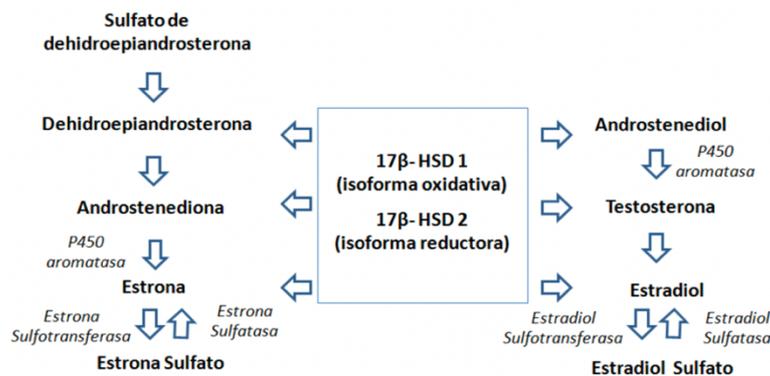
con células MCF-7 y se ha comprobado que está mediado por el receptor MT1 de la melatonina que provoca una disminución de los niveles intracelulares de AMPc resultando en un descenso de la actividad del factor ER-alfa. Esto demuestra el efecto antiestrogénico de la melatonina<sup>49</sup>.

Por otro lado, se han descrito acciones antiestrogénicas de la melatonina a través de su interacción con la calmodulina. En condiciones normales, la calmodulina se une al complejo E<sub>2</sub>-ER promoviendo así la unión al elemento de respuesta de estrógenos (ERE). Sin embargo, cuando la melatonina se une a la calmodulina, el complejo calcio-calmodulina queda bloqueado impidiendo la activación del factor ER-alfa. La regulación es exclusivamente sobre el factor ER-alfa, y se ha visto que una sobreexpresión del factor ER-beta disminuye la sensibilidad de las células tumorales a la melatonina<sup>47,50</sup>.

### Modulación de las enzimas implicadas en la síntesis local de estrógenos

La síntesis de estrógenos en la mujer en edad fértil se produce principalmente en los ovarios en respuesta al estímulo de la FSH. Sin embargo, en la menopausia, la principal fuente de estrógenos son el tejido adiposo y la piel debido a que posee la enzima encargada de sintetizar estrógenos a partir de precursores androgénicos, la aromatasa. La síntesis de estrógenos también se produce en otros tejidos como los osteoblastos, condrocitos, el endotelio vascular, músculo liso de la aorta y diferentes regiones cerebrales<sup>9</sup>.

El mecanismo enzimático que participa en la síntesis de estrógenos es extenso e incluye los siguientes sistemas: familia de la 17β-hidroesteroide dehidrogenasa (17β-HSD), aromatasa, estrógeno sulfatasa (STS) y estrógeno sulfotransferasa (EST) (Figura 7). Existen dos isoformas de la 17β-HSD, tipo 1 y tipo 2. La enzima de tipo 1 es esencial para la síntesis gonadal y extragonadal de estradiol (E2) y testosterona, productos con una actividad biológica potente. Por otro lado, la enzima tipo 2 cataliza la formación de esteroides con menor actividad biológica, como pueden ser la estrona (E1) o la androstenediona<sup>51</sup>.



**Figura 7:** Mecanismos enzimáticos implicados en la formación y transformación de andrógenos y estrógenos. (Tomado de Mediavilla MD, Sanchez-Barcelo EJ, Tan DX, Manchester L, Reiter RJ. 2010<sup>9</sup>).

La aromatasa sintetiza estrógenos a partir de andrógenos, la STS elimina el grupo sulfato de los estrógenos para conseguir E1 y E2 (productos biológicamente activos) y la EST lleva a cabo la reacción inversa, convirtiendo los estrógenos en sus metabolitos inactivos (forma sulfatada). En el adenocarcinoma de mama existe un aumento de actividad de las enzimas dirigidas a sintetizar estrógenos en su forma activa (17 $\beta$ -HSD tipo 1, aromatasa, STS) y una disminución de la actividad de la 17 $\beta$ -HSD tipo 2 y EST<sup>51</sup>.

El grupo de Sánchez-Barceló<sup>52</sup> estudió el efecto de la melatonina sobre líneas celulares MCF-7 y concluyeron que los efectos antiestrogénicos de la melatonina responden a la capacidad de actuar como un SEEM. Según sus estudios, la melatonina a dosis fisiológicas ejerce una acción inhibitoria sobre las principales enzimas encargadas de la síntesis de estrógenos activos, P450 aromatasa, estrógeno sulfatasa y la 17 $\beta$ -HSD tipo 1. Al contrario, la melatonina estimula la enzima estrógeno sulfotransferasa, aumentando así los niveles de su metabolito inactivo. El resultado final es una disminución de los niveles de estrógenos.

Además de los estudios *in vitro*, también se han realizado estudios *in vivo* con animales portadores de tumores de mama. Los resultados han demostrado que, *in vivo*, la melatonina también ejerce un efecto inhibitorio sobre la aromatasa<sup>52</sup> y la sulfatasa<sup>53</sup>.

## **MODULACIÓN DEL CICLO CELULAR: PROLIFERACIÓN, DIFERENCIACIÓN Y APOPTOSIS**

La modulación del ciclo celular y la inducción de la apoptosis de las células tumorales son los objetivos principales de las terapias antitumorales dirigidos contra la proliferación celular.

### Proliferación

Existen diferentes vías de señalización intracelular responsables del control proliferativo de las células. Algunas de éstas, en presencia de melatonina disminuyen su actividad, demostrando así las propiedades antiproliferativas de la melatonina. Entre las diferentes dianas se encuentran las siguientes: HIF-1 (factor inducible por hipoxia), NK- $\kappa$ B (factor nuclear-kappaB), PI3K/AKT (vía fosfatidilinositol 3-kinasa) y CDKs (familia de kinasas dependientes de ciclinas)<sup>54</sup>.

Estudios con células tumorales de diferente estirpe (MCF-7, HL-60, HepG2), han demostrado la capacidad de la melatonina de modular el ciclo celular. Se ha observado que la melatonina alarga la duración del ciclo celular mediante la expansión de la fase G1 y el retraso de la entrada en fase S, o mediante el reclutamiento de las células entre la fase G2 y el comienzo de la mitosis (fase M). La prolongación de la fase G1 reduce la proliferación celular y permite rescatar las células que se encuentran en fase G0, para así promover la diferenciación de éstas. Además, cuanto más tiempo permanezca una célula en fase G1, mayor oportunidad de reparar daños en el DNA que, de otra forma, podrían dar lugar a células tumorales<sup>9</sup>. La expansión de la fase G1 podría ser consecuencia de la acción estimuladora de la melatonina sobre la expresión de las proteínas supresoras de tumores p53 y p21<sup>19</sup>. Al contrario, la melatonina ha demostrado

ejercer un efecto inhibitorio en la expresión de la proteína protooncogénica ciclina D1, disminuyendo así la actividad proliferativa celular<sup>9</sup>.

### Diferenciación

La progresión tumoral y el grado de diferenciación celular están estrechamente relacionados. Los tumores mejor diferenciados presentan un mejor pronóstico debido a que, por lo general, se encuentran en estadios menos avanzados, al contrario de lo que ocurre en los tumores poco diferenciados que presentan un pronóstico peor<sup>55</sup>. De acuerdo con esta hipótesis, se ha demostrado sobre diferentes células tumorales (células de neuroblastoma, cáncer de próstata, MCF-7) que la melatonina induce la diferenciación celular. El mecanismo subyacente se basa en la expansión de la fase G1 y el retraso en la incorporación a la fase S, lo que en su conjunto resulta en un alargamiento en la duración del ciclo celular<sup>25,56</sup>.

### Apoptosis

Dependiendo de la magnitud del daño en el DNA, las células pueden entrar en una fase quiescente (G0) o sufrir el proceso de apoptosis si el defecto es mayor. La apoptosis es un proceso dependiente de proteasas intracelulares (caspasas), que provocan la desestructuración celular y en última instancia, su muerte.

El papel de la melatonina en la regulación de la apoptosis no está del todo claro. Existen estudios que muestran un efecto proapoptótico sobre las células tumorales mientras que presenta un efecto protector sobre las células normales. La melatonina, desencadena dos formas de apoptosis en las células MCF-7: una forma precoz independiente del sistema de caspasas que se asocia a un aumento de la proteína p53, y una forma tardía dependiente de la activación de las caspasas 7 y 9<sup>57</sup>.

Por otro lado, uno de los mecanismos principales que tienen las células para resistir a la apoptosis es aumentar la expresión de genes anti-apoptóticos como el Bcl-2. En relación con este mecanismo de resistencia, se ha demostrado que la capacidad antiapoptótica de la melatonina radica en disminuir la expresión de genes como el Bcl-2 y aumentar la de genes proapoptóticos como Bax<sup>58</sup>.

## **INHIBICION DE LA ACTIVIDAD DE LA TELOMERASA**

Las células cancerígenas se caracterizan por su capacidad de división ilimitada, lo que les confiere un estado permanente de "inmortalidad". Uno de los objetivos terapéuticos es, por tanto, bloquear la vía que permite a las células evadir la muerte celular. Existe una enzima conocida como telomerasa, cuya principal función es extender los extremos del DNA para evitar su acortamiento en cada ciclo celular. La actividad de la telomerasa está aumentada en el 85-90% de todos los cánceres.

La melatonina ha demostrado disminuir la actividad de la telomerasa en estudios *in vitro* e *in vivo*. Para medir su actividad se ha determinado la subunidad hTERT. Se ha visto que, en células normales, la melatonina aumenta la actividad de la telomerasa, no así en las células MCF-7, en las cuales disminuye su actividad. Se ha observado una

disminución de la expresión de la subunidad hTERT en respuesta a la melatonina de forma dosis-dependiente<sup>59</sup>.

Se sospecha que existe una interferencia entre receptores nucleares y receptores de membrana de la melatonina que en su conjunto regulan la actividad de la telomerasa ya que, al administrar un agonista de los receptores nucleares, la expresión del mRNA de la subunidad hTERT disminuye, mientras que la activación de los receptores de membrana la aumenta<sup>60</sup>.

Por último, el promotor de hTERT posee un ERE que puede ser activado por estrógenos, aumentando así la actividad de la telomerasa. La melatonina mediante sus efectos antiestrogénicos también puede disminuir la actividad de la telomerasa<sup>61</sup>.

## **EFFECTOS ANTIOXIDANTES**

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) producen un daño oxidativo en el DNA, lo que promueve la carcinogénesis. Debido a esto, los antioxidantes podrían utilizarse como agentes antitumorales. La melatonina es un excelente agente antioxidante. Sus efectos responden tanto a una forma directa, gracias a su capacidad reductora, como a una forma indirecta mediante la estimulación de la actividad de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa y la inhibición de las enzimas prooxidantes<sup>62</sup>.

El papel de la melatonina como agente antiestrogénico tiene relación directa con su efecto antioxidante. El metabolismo de los estrógenos es llevado a cabo por el sistema de la citocromo P450, la cual produce productos hidroxilados que son después oxidados hasta conseguir radicales de anión superóxido y radicales hidróxido, los cuales poseen gran poder oxidativo<sup>63</sup>. El 17 $\beta$ -estradiol está clasificado como un carcinógeno por la IARC (Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer). Entre los diversos mecanismos implicados, el estrés oxidativo es uno de los principales.

## **ANTIANGIOGÉNESIS**

El proceso de angiogénesis se define como la formación de nuevos vasos sanguíneos, esencial para el crecimiento tumoral. La inhibición de la angiogénesis es una de las dianas terapéuticas con mayor potencial en el momento. El proceso de angiogénesis comienza cuando, bajo una situación de hipoxia, aumentan los niveles del factor inducible por hipoxia (HIF). El HIF estimula, entre otros, el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF). El VEGF es un agente pro-angiogénico directo y se ha encontrado en niveles elevados en pacientes con cáncer.

La melatonina inhibe al VEGF, disminuyendo así de forma directa la angiogénesis. Además, también actúa mediante un mecanismo indirecto que incluye la inhibición de otros factores de crecimiento que participan en la formación de vasos (IGF, EGF, ET-1) y en la estabilización del HIF<sup>54</sup>. En células endoteliales de vena umbilical humana, la melatonina, a concentraciones farmacológicas, suprime la expresión del VEGF y reduce los niveles de HIF- $\alpha$ <sup>64</sup>. En células de cáncer de próstata la melatonina inhibe la expresión de HIF- $\alpha$  en condiciones de tanto de normoxia como de hipoxia<sup>65</sup>.

## **PREVENCIÓN DE LA DISRUPCIÓN DE LOS RITMOS CIRCADIANOS**

La relación entre la disrupción de los ritmos circadianos y el desarrollo tumoral ha sido ampliamente estudiada. El trabajo a turnos se ha asociado a múltiples alteraciones de la salud, incluyendo un aumento del riesgo de cáncer. El mecanismo subyacente se basa en la disrupción del ritmo circadiano secundario a la exposición nocturna a la luz. Este fenómeno se conoce como cronodisrupción, que supone una alteración a varios niveles del organismo incluido la expresión de diferentes genes<sup>66</sup>. El principal regulador del ritmo circadiano es la exposición a la luz, de modo que cambios en el patrón de exposición pueden producir una disrupción del ritmo. Se ha demostrado que la exposición nocturna a la luz en personas que trabajan en turno nocturno actúa de forma negativa sobre el ritmo circadiano y que esto promueve el desarrollo de cáncer de mama<sup>67</sup>.

El reloj central de nuestro organismo se encuentra en el núcleo supraquiasmático del hipotálamo. De ahí, emergen eferencias para el control de los demás relojes del organismo, todo ello mediado principalmente por el efecto de la melatonina. Además, existen unos “genes reloj” (PER1, PER2, CRY1, CRY2) cuya transcripción dependen del control circadiano y que se han visto implicados en vías que participan en la reparación del DNA. Se ha visto que un aumento en la expresión de PER1 y PER2 inhibe el crecimiento de las células tumorales y estimula su apoptosis<sup>67</sup>.

La melatonina nocturna a concentraciones fisiológicas podría ser suficiente para inhibir el crecimiento de las células tumorales, mientras que la disminución en su secreción facilita su crecimiento. Experimentos sobre animales expuestos a luz en el periodo nocturno demuestran que se pierde el pico nocturno de secreción de la melatonina, encontrando así niveles de esta indolamina iguales durante el día y la noche. Así, las variaciones en las concentraciones de melatonina se consideran responsables del desarrollo de cáncer relacionado con la cronodisrupción<sup>68</sup>.

## **INHIBICIÓN DE LAS METÁSTASIS**

Estudios *in vitro* sobre células MCF-7 muestran el efecto inhibitorio de la melatonina sobre la capacidad de diseminación de las células tumorales mediante el bloqueo de la acción del 17 $\beta$ -estradiol. Además, se ha descrito que la melatonina promueve la expresión de moléculas de adhesión (E-cadherina y  $\beta$ 1-integrina), dificultando así la diseminación a distancia<sup>69</sup>. El efecto antimetastásico de la melatonina depende directamente de su unión al receptor de membrana específico MT1. Se ha comprobado que en células tumorales que sobreexpresan MT1, en presencia de luzindol (antagonista de MT1, MT2), los efectos de la melatonina quedan bloqueados<sup>70</sup>.

## **EFFECTOS INMUNOESTIMULANTES**

En los últimos años la activación del sistema inmune ha ganado importancia como alternativa terapéutica antitumoral. Los distintos tratamientos van encaminados a aumentar la respuesta inmune para así luchar contra las células tumorales. Como ya sabemos, la síntesis de la melatonina no está restringida a la glándula pineal, también

podemos encontrarla en los órganos linfoides: médula ósea, timo y los linfocitos<sup>71</sup>. Se ha comprobado que, en situaciones con poca secreción de melatonina, debido a su estrecha relación con el sistema inmune, quedan deprimidas tanto la función celular como la humoral. Al contrario, la administración de la hormona, mediante su unión a receptores específicos, estimula la producción de células natural killer, monocitos y linfocitos, así como diferentes interleucinas (IL-2, IL-6, IL-12), INF- $\gamma$  y TNF- $\alpha$ <sup>72</sup>.

Debido a estos hallazgos, hoy en día se considera la melatonina como un potente agente inmunoestimulante. Sin embargo, en un estudio llevado a cabo con animales que sobreexpresaban el protooncogen N-ras, el efecto de la melatonina era el opuesto, produciendo una severa atrofia del tejido linfático<sup>73</sup>.

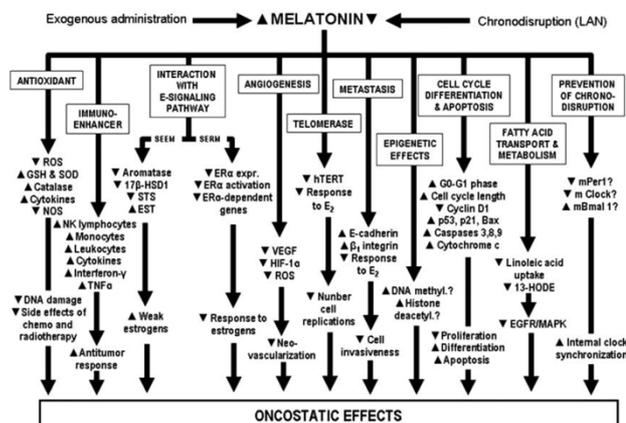
## FACTORES EPIGENÉTICOS

La evidencia del papel de la melatonina en la regulación de los factores epigenéticos de acetilación de histonas y metilación del DNA es escasa. Se ha visto que, en los macrófagos, la melatonina inhibe la p300 histona-acetil-transferasa, impidiendo así la acetilación de la proteína p53 y su posterior unión al DNA. El resultado es una ausencia en la expresión de los genes codificantes para los sistemas iNOS y COX-2<sup>74</sup>. Otro estudio mostró que la administración de melatonina a células madre de tejido neural provocaba un aumento de la actividad de la histona H3, promoviendo así la acetilación. Ambos estudios demuestran que, la melatonina ejerce un efecto directo sobre la regulación epigenética de las células.

## TRANSPORTE Y METABOLISMO DE ÁCIDOS GRASOS

La melatonina impide la activación de la vía EGFR/MAPK implicada en la proliferación celular. El mecanismo subyacente se basa en el bloqueo de la captación del ácido linoleico (mediado por receptores específicos para la melatonina) y su posterior conversión en 13-HODE (ácido 13-hidroxioctadecenoico), elemento necesario para la activación de la vía MAP-quinasa<sup>75</sup>.

La Figura 8 resume todos los mecanismos antitumorales de la melatonina.



**Figura 8:** Resumen de los mecanismos implicados en la actividad oncoestática de la melatonina (Tomado de Mediavilla MD, Sanchez-Barcelo EJ, Tan DX, Manchester L, Reiter RJ. 2010<sup>9</sup>).

## MELATONINA COMO ADYUVANTE EN EL CÁNCER

La quimioterapia y la radioterapia ejercen una función excepcional en el tratamiento del cáncer. En los últimos años, con la intención de reducir los efectos adversos y aumentar la eficacia de estos tratamientos, se han ido estudiando diferentes terapias adyuvantes. El Instituto Nacional del Cáncer define la terapia adyuvante como *“Un tratamiento adicional para el cáncer que se administra después del tratamiento primario para disminuir el riesgo de recidiva. Las diferentes opciones incluyen la quimioterapia, radioterapia, terapia biológica, y la terapia con hormonas”*. Dentro de esta última, se encuentra la melatonina.

### MELATONINA Y QUIMIOTERAPIA

#### Estudios *in vitro*

La combinación de melatonina con quimioterapia ejerce, en algunos casos, un efecto sinérgico de carácter antiangiogénico sobre las células tumorales. La angiogénesis es promovida principalmente por el VEGF (Factor de Crecimiento Endotelial Vascular) y se ha visto que, en pacientes con cáncer, niveles elevados de VEGF se correlacionan con un peor pronóstico<sup>76</sup>. Un estudio llevado a cabo con células tumorales mamarias de caninos demostró que la administración combinada de IL-25 (citoquina proinflamatoria) y melatonina disminuye la viabilidad celular, efecto mediado por la activación del sistema de caspasas. Asimismo, tanto en tumores localizados como en los metastásicos, la melatonina junto con la IL-25 ejerce un papel reductor de los niveles de VEGF<sup>77</sup>.

La vía PI3K/ Akt/ mTOR tiene un papel fundamental en el mecanismo de carcinogénesis, ya que su activación estimula la proliferación, promueve la supervivencia y diseminación celular e induce la angiogénesis<sup>76</sup>. La combinación de melatonina con quimioterapia ejerce diferentes acciones sobre la vía Akt. En células de Sarcoma de Ewing (SK-N-MC) la melatonina asociada a vincristina o ciclofosfamida mostró una potenciación de la muerte celular mediante la activación del sistema de caspasas independiente de la participación de la vía Akt<sup>78</sup>. Sin embargo, en células de cáncer de mama hormono-dependiente, la administración conjunta de melatonina con vitamina D3 mostró una inhibición de la proliferación celular y de la apoptosis mediante el bloqueo de la activación de la vía Akt<sup>79</sup>.

En un modelo de células endoteliales para el estudio de la angiogénesis se describió la capacidad de la melatonina para regular la respuesta a vinorelbina y docetaxel. La melatonina promovió la inhibición de los agentes quimioterápicos sobre diferentes procesos implicados en la angiogénesis, como la proliferación y migración celular. Asimismo, tras la administración de vinorelbina y docetaxel, los niveles de factores proangiogénicos aumentaron, efecto que antagonizó la melatonina. Además, tras la administración de melatonina también se observó un incremento en la inhibición de la vía Akt<sup>80</sup>.

Se ha investigado el papel de la melatonina como adyuvante de la quimioterapia en varios tipos de cáncer diferentes: cáncer de mama, cáncer de pulmón, CCR, hepatocarcinoma, cáncer de cérvix o cáncer de ovario.

La melatonina ha demostrado inhibir el crecimiento celular del cáncer de mama en numerosos estudios. Margheri et al llevaron a cabo un estudio con células MCF-7 de cáncer de mama para investigar los efectos de la asociación de melatonina, ácido transretinoico y somatostatina. Los resultados demostraron que la melatonina en combinación con estos dos compuestos potenciaba la inhibición de la viabilidad y crecimiento celular<sup>81</sup>.

Se ha observado que la melatonina mitiga la iniciación, progresión y capacidad de metástasis del cáncer mediante la inhibición de la síntesis de estrógenos y la actividad transcripcional del complejo estradiol-ER en el linaje celular MCF-7. Además, la melatonina mejora la sensibilidad de estas células a los agentes quimioterápicos a la vez que las protege de sus posibles efectos secundarios. En un estudio con células MCF-7 y MDA-MB-231 (triple negativas), la administración conjunta de melatonina y doxorrubicina resultó en la inhibición de la proliferación celular y supresión de la migración. Sin embargo, los efectos solo fueron observados en las células MCF-7, no tanto en las MDA-MB-231, lo cual refuerza la hipótesis de que el efecto de la melatonina está estrechamente relacionado con la expresión de receptores de estrógenos. Por otro lado, la administración de doxorrubicina se relacionó con un aumento de varios genes implicados en la angiogénesis, mientras que la combinación con melatonina contrarrestó ese efecto<sup>82</sup>. Otro estudio con células MCF-7 describió que el tratamiento combinado basado en tamoxifeno y melatonina, producía un aumento significativo de la apoptosis celular junto con un aumento de la proteína pro-apoptótica Bid y la disminución de la expresión de la proteína survivina (proteína inhibidora de la apoptosis)<sup>83</sup>.

Se ha demostrado que la melatonina ejercer un efecto sinérgico con el 5-fluorouracilo en células de cáncer de colon mediante la inhibición de la fosforilación de la vía Akt, lo cual impide la activación de la iNOS (óxido nítrico sintetasa). Todo ello se traduce en una inhibición de la proliferación celular, migración e invasividad<sup>84</sup>. El efecto del 5-fluorouracilo en células de carcinoma epidermoide de esófago es el opuesto, ya que promueve la activación de la vía Akt. Sin embargo, la adición de melatonina revierte este efecto y estimula la citotoxicidad producida por el 5-fluorouracilo<sup>85</sup>. Moloudizargari et al investigaron las posibles acciones de la melatonina como modulador de las drogas antitumorales y concluyeron que esta actúa modulando varias vías de señalización implicadas en la proliferación tumoral como la vía MAPK, ERK, AKT<sup>86</sup>.

Se han investigado otros efectos de la melatonina en el cáncer colorrectal. Se ha observado que, la combinación de melatonina con doxorrubicina en células Caco-2 de cáncer colorrectal aumenta la tasa de apoptosis y produce un incremento significativo en la expresión de varios genes implicados en la apoptosis y motilidad celular. El efecto es mayor cuando se asocian ambos tratamientos en comparación con la administración aislada de doxorrubicina<sup>87</sup>. En células SNU-C5 (linaje celular de cáncer colorrectal) resistentes a oxaliplatino, la combinación de éste con melatonina disminuye la expresión

de PrP<sup>c</sup> (proteína aumentada en células resistentes a oxaliplatino) y aumenta la producción de aniones superóxido, resultando en un aumento del estrés del retículo endoplásmico y la apoptosis<sup>88</sup>.

En células de cáncer de cérvix, la combinación de melatonina con varios agentes quimioterápicos, incluyendo cisplatino, 5-fluorouracilo (5-FU) y doxorrubicina, resultó en un incremento del efecto citotóxico de la quimioterapia. La melatonina aumentó la actividad de la caspasa-3 en aquellas células tratadas con cisplatino y 5-FU, e incrementó los niveles de ROS y de apoptosis mitocondrial, dando como resultado un aumento de la fragmentación del DNA de las células tumorales. Estos efectos se observaron en las células que recibieron melatonina asociada a cisplatino, en comparación con aquellas que sólo recibieron cisplatino<sup>89</sup>.

Para investigar la implicación de los receptores MT1, MT2 y MT3 como parte del mecanismo adyuvante de la melatonina, se llevó a cabo un estudio con células de cáncer colorrectal (HT-29) y células de cáncer de cérvix (HeLa) en el cual se combinaba la hormona con cisplatino o 5-FU. El estudio demostró que la combinación de melatonina tanto con cisplatino como con 5-FU reducía la viabilidad celular en ambos linajes celulares. Los resultados mostraron que la melatonina potenciaba los efectos citotóxicos y proapoptóticos de estos agentes quimioterápicos mediante la activación de los receptores MT3<sup>90</sup>.

En otro estudio con células HeLa, la melatonina asociada a TNF- $\alpha$  provocó un incremento de la autofagia a través de la activación de la caspasa-9, aumento de ROS, reducción de ATP y un incremento de la expresión de cyt-c en el núcleo, lo que se traduce en mayor muerte celular<sup>91</sup>. En otro estudio que investigaba la combinación de melatonina con cisplatino sobre el mismo linaje celular, se vio que, en presencia de melatonina, se producía un incremento de la apoptosis mediada por la activación de la caspasa-9 y un aumento de ROS, reforzando así los resultados del estudio anterior<sup>92</sup>.

Kim et al<sup>93</sup> llevaron a cabo un estudio para investigar el efecto sobre células de cáncer de ovario humano (SK-OV-3) de la combinación de melatonina con cisplatino. Concluyeron que, la melatonina promueve la apoptosis inducida por el cisplatino mediante la inactivación de diferentes elementos como la cascada ERK/p90RSK/HSP27. Asimismo, en otro estudio se observó que la melatonina junto con etanol promueve la apoptosis, aumenta la expresión de p53, Bax, caspasa-3 y la fragmentación del DNA<sup>94</sup>.

La quimiorresistencia observada en pacientes con hepatocarcinoma, está estrechamente ligada a factores estresantes del entorno, como lo son la privación nutricional o una situación de hipoxia. Mediante este estudio, se ha comprobado que en los linajes celulares HepG2 y SMMC-7721 (hepatocarcinoma) el tratamiento previo a la administración de doxorrubicina con tunicamicina (inductor de estrés del retículo endoplásmico) resultó en un descenso marcado de la tasa de apoptosis celular, es decir, se vio que estas células presentaban mayor resistencia a la doxorrubicina. Sin embargo, la adición de melatonina a la tunicamicina resultó en un incremento de la apoptosis en respuesta a la doxorrubicina. La melatonina es capaz de reducir las resistencias a la doxorrubicina en células humanas de hepatocarcinoma mediante el bloqueo de la vía

PI3K/Akt, incremento de los niveles de CHOP y disminución de la survivina<sup>95</sup>. Por otro lado, la combinación de melatonina con cisplatino en células de hepatocarcinoma ha demostrado que potencia la apoptosis inducida por cisplatino e inhibe la proliferación celular. El mecanismo subyacente a estos hechos ha demostrado ser la inactivación de las vías de señalización NF- $\kappa$ B/COX-2 y AP-2 $\beta$ /hTERT<sup>96</sup>.

Siguiendo con los estudios con células de hepatocarcinoma, se ha investigado la susceptibilidad de diferentes linajes celulares (HepG2, HuH7, Hep3B) a sorafenib y la combinación de este con melatonina. Se ha visto que la administración conjunta de melatonina y sorafenib ejercía un efecto citotóxico sinérgico sobre las células resultando en un aumento de la autofagia celular. Además, las células Hep3B mostraron sensibilidad a sorafenib con la administración de melatonina, que no presentaban previamente<sup>97</sup>. La combinación de melatonina con sorafenib indujo también la apoptosis de las células HuH7 mediante la activación de la caspasa-3 y la vía de señalización JNK/c-Jun<sup>98</sup>.

La melatonina también ha demostrado potenciar el efecto de sorafenib en el adenocarcinoma ductal de páncreas, probablemente el cáncer con peor pronóstico a día de hoy. La combinación de melatonina con sorafenib ha demostrado tanto *in vivo* como *in vitro* que inhibe la progresión del crecimiento tumoral mediante un aumento en la tasa de apoptosis, inducción de disfunción mitocondrial y bloqueo de la vía de señalización PDGFR- $\beta$ /STAT3<sup>99</sup>.

Por último, se ha estudiado el efecto de la melatonina en células de melanoma en combinación con fisetina, un bio-flavonol ampliamente distribuido entre las plantas que presenta efecto antitumoral. La combinación de fisetina con melatonina promueve la apoptosis e inhibe la expresión de las enzimas iNOS y COX-2, previniendo así la activación de la vía de señalización PI3K/AKT. Los resultados demostraron que la melatonina potencia el efecto antitumoral de la fisetina en células de melanoma mediante la activación de la vía de apoptosis dependiente de la citocromo-c y la inhibición de la señalización vía COX-2/iNOS y NF- $\kappa$ B/p300, sugiriendo así, que la terapia combinada de estos dos productos podría ser beneficiosa en pacientes con melanoma<sup>100</sup>.

### Estudios *in vivo*

La combinación de melatonina con pitavastatina (una estatina supresora de tumores) ha demostrado reducir el tamaño y la frecuencia tumoral en estudios con modelos murinos con cáncer de mama. Además, la melatonina es capaz de contrarrestar el aumento en los niveles de VEGF secundarios al tratamiento con pitavastatina<sup>101</sup>.

También se ha estudiado la combinación de melatonina con la vacuna DNA HPV-16 E7 del virus del papiloma humano sobre un modelo de tumor TC-1 en ratones. Los resultados mostraron que la administración adyuvante de melatonina tras la vacuna estimulaba la citotoxicidad de ésta y aumentaba la respuesta mediada por IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$ . El resultado observado fue un enlentecimiento del crecimiento tumoral y un aumento

de la supervivencia. Por otro lado, los niveles de IL-10 en el microambiente tumoral disminuyeron en respuesta a melatonina<sup>102</sup>.

Como ya hemos comentado, las crecientes resistencias a los agentes quimioterápicos son un gran obstáculo para conseguir un control y tratamiento óptimos de diferentes tipos de cáncer, entre ellos, el cáncer de mama. Por este motivo, en 2020, W. Talib llevó a cabo un estudio para analizar la respuesta del cáncer de mama resistente a cisplatino y vincristina a la combinación de melatonina más dieta cetogénica. La primera parte del estudio se llevó a cabo con células que presentaban resistencia al tratamiento basado en cisplatino y vincristina a las que se les administró melatonina y se estudió, mediante PCR, la expresión génica de proteínas relacionadas con la apoptosis. La segunda parte del estudio se llevó a cabo en ratones con cáncer de mama, y se estudió la respuesta a la administración combinada de dieta cetogénica y melatonina o quimioterapia. El estudio concluyó que la combinación de melatonina y una dieta cetogénica inhibía la resistencia de las células a la quimioterapia mediante inducción de la apoptosis, inhibición del proceso angiogénico y disminución de la expresión de los genes relacionados con las resistencias<sup>103</sup>.

En 2021, otro grupo de investigación llevó a cabo un estudio en ratas Wistar que presentaban cáncer de mama inducido con DMBA para investigar los efectos de la administración combinada de melatonina con zinc en los niveles de IL-6, peroxidación lipídica y el metabolismo basal. Los resultados concluyeron que la terapia combinada de zinc y melatonina podía contribuir a la prevención del crecimiento tumoral mediante la mejora de la disrupción del metabolismo basal y la supresión de los niveles de IL-6, así como a la reducción del daño tisular<sup>104</sup>.

La combinación de melatonina y metformina en ratones hembra con cáncer de piel inducido con benzopireno provocó una reducción del número y tamaño de los cánceres de piel, así como una disminución de los niveles de LPO (lipid peroxidation)<sup>105</sup>. Otro estudio demostró que, la terapia combinada basada en melatonina y vemurafenib (anticuerpo monoclonal contra la proteína B-RAF), en ratones con melanoma con la mutación V600E BRAF, potenció el efecto antiangiogénico del vemurafenib. El mecanismo subyacente ha demostrado ser la translocación nuclear del factor NF-κB p50/p65 y posterior unión a los promotores de iNOS y hTERT, suprimiendo así la expresión de estos últimos elementos<sup>106</sup>.

El NDEA (N-nitrosodimetilamina) es un potente agente carcinógeno inductor de cáncer de hígado. Para evaluar la acción quimiopreventiva de la melatonina, se llevó a cabo un estudio en ratas Wistar a las cuales se les inyectó primero el NDEA y posteriormente melatonina. Los resultados mostraron que los ratones a los cuales se les había administrado NDEA presentaban menor peso, micro y macro tumores, y niveles plasmáticos aumentados de transaminasas (ALT, AST) y de alfa-fetoproteína. Además, el NDEA se asoció a niveles reducidos de las principales enzimas antioxidantes. Sin embargo, la administración de melatonina demostró reducir el desarrollo tumoral y disminuir los efectos del NDEA, principalmente debido a sus propiedades antioxidantes<sup>107</sup>.

El fallo ovárico precoz (POF) secundario al tratamiento quimioterápico es uno de los grandes problemas para las mujeres enfermas de cáncer. Con el objetivo de preservar la fertilidad, es necesario llevar a cabo estudios que investiguen posibles opciones preventivas del fallo ovárico. Dentro de las propuestas como método preventivo se encuentra la melatonina. Jang et al<sup>108</sup> han demostrado que la melatonina previene la disrupción inducida por cisplatino de la reserva folicular en los ovarios de ratas. El fallo ovárico precoz es un efecto secundario del tratamiento con cisplatino, ya que este ejerce un estímulo constante sobre los folículos primordiales en los ovarios, provocando así el fallo ovárico precoz sin inducción de la apoptosis de éstos. La administración de melatonina previene la fosforilación de los elementos de la vía PTEN/AKT/FOXO3a, reduciendo así la activación folicular y su reclutamiento precoz. El mismo grupo de investigación, en vistas de que la potencia de la melatonina no era muy alta, llevó a cabo otro estudio en el cual combinaba la melatonina con otra hormona, la grelina. La grelina demostró potenciar el efecto protector frente al fallo ovárico precoz que ya se había evidenciado con la melatonina. La administración combinada de melatonina con grelina fué más efectiva que la melatonina sola<sup>109</sup>.

La melatonina ha demostrado presentar ventajas terapéuticas en ratones con cáncer de estómago y metástasis pulmonares. Los animales tratados con IL-1 $\beta$  junto con melatonina desarrollaron un menor número de metástasis pulmonares y el tamaño de los nódulos ya presentes se redujo. Además, la melatonina revirtió varios efectos deletéreos de la IL-1 $\beta$ , como el incremento en los niveles de Snail (factor de transcripción represor de la expresión de la E-cadherina) y la disminución de los niveles de E-cadherina<sup>110</sup>.

### Ensayos clínicos

El grupo de investigación italiano dirigido por P. Lissoni llevó a cabo el primer ensayo clínico en 1991 para estudiar los efectos de la melatonina en diferentes tipos de tumores. El ensayo clínico incluía a 54 pacientes que presentaban un tumor sólido con metástasis a distancia, sin respuesta al tratamiento tumoral, y con un índice de Karnofsky superior al 20%. La mayoría de los pacientes ya habían recibido tratamiento con quimioterapia. El ensayo consistía en estudiar los resultados de la administración de melatonina a estos pacientes. El tratamiento con melatonina provocó una disminución de la progresión tumoral junto con un aumento en la supervivencia<sup>111</sup>. Ese mismo año, el Dr. González llevó a cabo otro ensayo clínico con 42 pacientes con melanoma en estadio avanzado para estudiar el efecto de la melatonina. Este ensayo demostró que la melatonina controlaba el pronóstico de la enfermedad en pacientes con melanomas avanzados, existiendo una respuesta dosis-dependiente<sup>112</sup>.

Un año después, el grupo italiano llevó a cabo otro ensayo clínico para estudiar los efectos de la administración combinada de melatonina e IL-2 como tratamiento de primera línea en pacientes con cáncer de pulmón no microcítico en estadio avanzado. El estudio concluyó que la combinación de melatonina con IL-2 podría ser una herramienta terapéutica eficaz en estos pacientes, ya que los resultados del grupo que recibió ambos fármacos eran comparables con la administración de quimioterapia, pero con una menor toxicidad<sup>113</sup>. De los 20 pacientes que fueron parte del ensayo, el 20%

consiguió una respuesta parcial al tratamiento, el 50% control tumoral, y el 30% restante no obtuvo efectos positivos sobre el tumor. El mismo grupo describió que la inmunoterapia basada en dosis bajas de IL-2 asociado a melatonina también podría ser una buena alternativa terapéutica en cáncer de ovario avanzado resistente al tratamiento convencional<sup>114</sup>.

En un estudio en fase II sobre la eficacia del tratamiento combinado de melatonina y tamoxifeno en 25 pacientes con cáncer de órgano sólido metastásico (cáncer de mama y cáncer de próstata), se ha descrito un aumento de la supervivencia y de la respuesta al tratamiento combinado. Esto sugiere que la melatonina podría ejercer un efecto beneficioso en aquellos tumores de órgano sólido metastásico no subsidiarios de otras estrategias terapéuticas<sup>115</sup>.

Teniendo en cuenta que los efectos adversos de la quimioterapia están estrechamente relacionados con el estrés oxidativo y que la melatonina es un potente agente antioxidante, el grupo de P. Lissoni llevó a cabo un ensayo clínico con 80 pacientes con diferentes cánceres (35 cáncer de pulmón, 31 cáncer de mama y 14 tumor del tracto gastrointestinal) para evaluar la toxicidad de la quimioterapia en respuesta a la adición de melatonina al tratamiento. El estudio demostró que la toxicidad producida por la quimioterapia fue menor en los pacientes tratados con una combinación de melatonina y quimioterapia en comparación con el grupo que sólo recibió quimioterapia. Los resultados mostraron una menor incidencia de trombocitopenia, malestar general y astenia en el primer grupo<sup>116</sup>. Además, la incidencia de estomatitis y neuropatía también fue menor en el grupo tratado con melatonina, aunque los resultados no alcanzaron la significación estadística. Se puede concluir que, la melatonina no solo potencia la actividad anticancerosa de la quimioterapia, sino que, además, protege a las células de los efectos adversos causados por ésta.

En 2002, el Dr. Jian-Jun<sup>117</sup> llevó a cabo un ensayo clínico con 100 pacientes con hepatocarcinoma inoperable para estudiar el efecto de la adición de melatonina al tratamiento con quimioembolización transcáteder (TACE). Los resultados mostraron una menor toxicidad del TACE en los pacientes que recibieron melatonina (probablemente gracias a su efecto antioxidante), mejoría de la función hepática, calidad de vida y supervivencia.

En 2003, un ensayo clínico con 100 pacientes con cáncer de pulmón no microcítico en estadio avanzado estudió el efecto de la combinación de quimioterapia y melatonina en la supervivencia a los 5 años. Los pacientes recibieron una pauta de quimioterapia basada en cisplatino y etopósido, más melatonina. Los resultados mostraron que el grupo que recibió melatonina presentó no solo un incremento estadísticamente significativo de la supervivencia a los 5 años, sino también una reducción en la progresión tumoral. Además, los pacientes que recibieron melatonina toleraron mejor la quimioterapia<sup>118,119</sup>. En 2007, en 370 pacientes con neoplasias sólidas metastásicas (cáncer de pulmón no microcítico, adenocarcinoma gástrico, cáncer colorrectal) se estudió la respuesta a la combinación de melatonina con diferentes agentes quimioterápicos. Los resultados mostraron que la tasa de regresión tumoral fue significativamente mayor en aquellos pacientes que habían sido tratados con

quimioterapia asociada a melatonina frente a los pacientes que sólo habían recibido tratamiento quimioterápico<sup>118</sup>. Además, el grupo que recibió melatonina presentó una tasa de supervivencia a las 2 años mayor.

En ese mismo año, el grupo de G. Cerea llevó cabo un ensayo clínico con 30 pacientes que padecían cáncer de colon y que ya habían sido tratados con 5-fluoracilo para investigar el efecto de la administración combinada de melatonina más irinotecan. Los resultados mostraron que la melatonina potenciaba la eficacia del irinotecan, además de reducir la diarrea producida por éste<sup>120</sup>.

En 2012 realizaron un metaanálisis con 21 ensayos clínicos para estudiar la melatonina como adyuvante de la quimioterapia. Los resultados mostraron mayor supervivencia al año, menor progresión de la enfermedad y mayor tolerabilidad al tratamiento quimioterápico en aquellos pacientes que habían recibido melatonina como adyuvante<sup>121</sup>. Por lo tanto, se puede decir que la melatonina ejerce un efecto positivo sobre los pacientes con cáncer avanzado, tanto en tasas de supervivencia como de progresión de la enfermedad y disminución de los efectos secundarios.

## **MELATONINA Y RADIOTERAPIA**

### Estudios *in vitro*

El arsenal terapéutico del que disponemos hoy en día contra el cáncer incluye la radioterapia. Para mejorar su eficacia, se ha estudiado la combinación de esta con diferentes agentes radiosensibilizantes, por ejemplo, ciertas sustancias antiangiogénicas. La melatonina, entre sus varias funciones, ejerce un efecto antiangiogénico ampliamente estudiado. Asimismo, la melatonina a concentraciones de 1 mM, promueve la capacidad inhibitoria de la radioterapia sobre diferentes tejidos. El mecanismo subyacente se basa en la modulación de la angiogénesis, proliferación celular, capacidad de migración y la formación de nuevos vasos sanguíneos<sup>122</sup>. Además, se ha demostrado que la melatonina potencia el efecto antiangiogénico y neutraliza la actividad proangiogénica secundaria al tratamiento con radioterapia en co-cultivos de células endoteliales con células tumorales (HUVEC/MCF-7).

En el cáncer de mama, la melatonina ejerce un papel protector frente a los efectos dañinos de la radioterapia; reduce la reparación del DNA, induce el metabolismo aeróbico provocando así un aumento en los niveles de radicales libres de oxígeno, activa la apoptosis y autofagia celular, modula la síntesis de estrógenos y aumenta la expresión de la proteína p53, todo ello dando como resultado un incremento de la muerte de las células tumorales<sup>123-126</sup>. Asimismo, en modelos *in vitro* de células endoteliales y tumorales mamarias, la melatonina demostró incrementar el efecto inhibitorio de la radioterapia sobre la síntesis de estrógenos mediada por la actividad de las enzimas aromatasa, sulfatasa y 17 $\beta$ -HSD1. La melatonina contrarrestó el efecto estimulador de la radioterapia sobre la permeabilidad vascular, mediante la internalización de la VE-cadherina y el bloqueo de la vía Akt<sup>122</sup>.

La radioterapia y el tratamiento hormonal son consideradas hoy en día una opción de tratamiento estándar adyuvante tras la cirugía en el cáncer de mama. En cultivos celulares, la administración de melatonina una semana antes de aplicar la radiación resultó en una disminución de la proliferación celular en comparación con la respuesta a la radiación sola. Además, la melatonina demostró un menor efecto en las células en fase G2/M con un mayor porcentaje de células en fase G0-G1 y menor número en fase S. Se demostró además, una mayor reducción con la administración de melatonina de la actividad de dos proteínas implicadas en la reparación del DNA (RAD51, DNA-PKcs). El tratamiento con melatonina previo a la radiación demostró sensibilizar a las células tumorales mamarias al efecto ionizante de la radiación, efecto secundario a la disminución de la proliferación celular, la parada del ciclo celular y el bloqueo de la reparación del DNA<sup>127</sup>.

El cáncer colorrectal es el cáncer gastrointestinal maligno más frecuente. El tratamiento con radioterapia en estos casos se puede ver comprometido por la resistencia de las células. Guangyu et al llevaron a cabo un estudio con células de cáncer colorrectal HCT116 para investigar el efecto de la combinación de melatonina con radioterapia. Los resultados mostraron que la melatonina era capaz de inhibir la proliferación y migración celular y la formación de colonias después de aplicarles radioterapia. El aumento de la sensibilidad de las células al tratamiento con radioterapia respondía a una parada del ciclo celular en fase G2/M, disminución de la expresión de los mecanismos implicados en la reparación del DNA y activación de la apoptosis. Posteriormente, estudiaron el efecto de la melatonina combinada con radioterapia en tumores colorrectales *in vivo*. Los ratones que recibieron la terapia combinada mostraron una reducción significativa de la proliferación celular<sup>128</sup>.

En un estudio llevado a cabo con fibroblastos humanos, se estudió el efecto de diferentes terapias del cáncer como el docetaxel, vinorelbina y la radioterapia y el efecto de la adición de melatonina a éstas. La melatonina disminuyó la expresión de la aromatasa e inhibió la actividad de la enzima COX, potenciando así el efecto oncostático de la radioterapia<sup>129</sup>.

### Estudios *in vivo*

En 2003, se llevó a cabo un estudio con murinos para investigar la capacidad radioprotectora de la melatonina a dosis farmacológicas frente al daño tisular. Las ratas fueron expuestas a radiación y posteriormente se les administró melatonina o suero salino. Los resultados a las 12h y 72h post-radiación mostraron niveles incrementados de MDA (malondialdehído) y disminución de GSH (glutación reductasa) en hígado, pulmones, colon y tejido intestinal. La administración de melatonina resultó en una disminución de los niveles de MDA y un aumento en los niveles de GSH. El estudio concluyó que el aumento de MDA junto con el incremento de la actividad de la MPO y la disminución de GSH fueron consecuencia del efecto antioxidante de la melatonina, y que por lo tanto, la suplementación con melatonina en pacientes con cáncer en tratamiento con radioterapia podría ser beneficioso<sup>130</sup>.

El principal efecto secundario de la radioterapia es la mucositis, probablemente debido a un aumento de radicales libres de oxígeno. En pacientes con cáncer de cabeza y cuello la mucositis produce un gran deterioro de la calidad de vida. La melatonina, gracias a su actividad como agente antioxidante, podría ser un buen agente adyuvante a la radioterapia. Para estudiar el efecto preventivo de mucositis de la melatonina se llevó a cabo un estudio en el cual irradiaron la lengua de ratas Wistar y después les administraron melatonina adyuvante. Según se pudo comprobar, los niveles de producción tisular de melatonina en las ratas sometidas a radiación estaban disminuidos. La administración de melatonina permitió restaurar los niveles de la hormona en la lengua de las ratas, previniendo así la formación de úlceras. El estudio concluyó que la melatonina aplicada en gel protegía a las mitocondrias del daño producido por la radioterapia y bloqueaba la activación del inflammasoma NF- $\kappa$ B/NLRP3<sup>131</sup>.

Por otro lado, la radiación ionizante también puede producir daño intestinal, lo cual es un gran problema para los pacientes en tratamiento con radioterapia abdominal o pélvica. Se ha estudiado la acción protectora de la melatonina frente al daño tisular secundario a la radiación en ratas. El tratamiento pre-radiación con melatonina resultó en un efecto estimulante del sistema inmune a través de mecanismos como la activación de la señalización TWEAK y de los Toll-like receptor. El estudio concluyó que, la melatonina presenta un efecto protector relacionado con la activación del sistema inmune frente al daño intestinal provocado por la radioterapia abdominal<sup>132</sup>.

Recientemente se ha descrito el papel mitigador de la melatonina frente a la radioterapia en ratones C57BL/6. Primero se irradió a los ratones y, a continuación, se les administró melatonina vía oral durante 7 días y se monitorizó la supervivencia a los 30 días. Se estudiaron diferentes órganos como la médula ósea, el bazo o el intestino para cuantificar el daño producido por la radiación. Los resultados demostraron que la melatonina fué capaz de aumentar la supervivencia tras la administración de radiación. Se vio una disminución de la mielosupresión y la pancitopenia inducidos por la radiación, junto con un aumento de linfocitos CD4 y CD8 en sangre periférica, además, de una reducción del daño en el intestino delgado. Como conclusión, se ha demostrado que la melatonina mitiga el daño gastrointestinal y hematológico producido por la radiación, hallazgos que podrían ser útiles en el contexto de la radioterapia en cáncer<sup>133</sup>.

### Ensayos clínicos

El grupo de P. Lissoni llevó a cabo un ensayo clínico para estudiar los efectos de la administración de melatonina a pacientes con glioblastoma previamente tratados con radioterapia. El pronóstico del glioblastoma cerebral es pésimo, con una supervivencia media de 6 meses desde el diagnóstico, e incluso la combinación de cirugía, quimioterapia y radioterapia no consiguen aumentar significativamente la esperanza de vida de estos pacientes. Este ensayo clínico que incluía a 30 pacientes investigó la respuesta a la administración de melatonina como adyuvante de la radioterapia. Los resultados mostraron que la adición de melatonina al tratamiento radioterápico aumentaba la eficacia de la radioterapia, prolongando así la supervivencia de los pacientes<sup>134</sup>.

La linfopenia es otro de los efectos adversos de la radioterapia, principalmente en pacientes que han recibido radioterapia a nivel pélvico ya que en esa localización se encuentra la mayor actividad de la médula ósea en los adultos. Esta linfopenia podría estar relacionada con una peor actividad antitumoral y menor respuesta a la radioterapia. Estudios *in vitro* han demostrado que la toxicidad inducida por esta puede suprimirse con agentes antioxidantes, como es la melatonina. En 2008, se realizó un ensayo clínico con 20 pacientes con cáncer de recto o cáncer de cérvix que habían recibido radioterapia previa para estudiar la respuesta a la administración de melatonina (MT), 5-metoxitriptamina (5-MTT) e IL-2 a dosis bajas. Ni la melatonina ni la 5-MTT demostraron ser eficaces en la prevención de la linfopenia, sólo la administración de IL-2 a dosis bajas. Independientemente de esto, la melatonina puede potenciar la acción y eficacia antitumoral de la IL-2 y amplificar así la proliferación linfocitaria<sup>135</sup>.

Otro grupo de investigación llevó a cabo un ensayo clínico para evaluar la capacidad radiosensibilizante de la melatonina en el recuento de células sanguíneas de 60 pacientes con cáncer de recto. Los resultados mostraron que la trombocitopenia, anemia, linfopenia y neutropenia inducidos por la radioterapia eran un poco menores en los pacientes tratados con melatonina en comparación con el grupo control. Concluyeron que la melatonina era capaz de disminuir la destrucción celular provocada por la radioterapia<sup>138</sup>.

Sin embargo, el principal efectos adverso del tratamiento con radioterapia es la mucositis. La mucositis es un efecto adverso frecuente que también podemos encontrar tras el tratamiento con quimioterapia, y que no tiene un tratamiento efectivo. En pacientes con cáncer de cabeza y cuello, la mucositis es responsable de gran dolor y de un retraso del tratamiento que afecta directamente al pronóstico de la enfermedad. Pacientes con cáncer de cabeza y cuello fueron parte de un ensayo clínico para evaluar la respuesta al tratamiento adyuvante con melatonina tras radioterapia. Los resultados mostraron una menor incidencia de mucositis oral grave y xerostomía, aunque los datos no fueron estadísticamente significativos. Sin embargo, sí que demostraron que la melatonina retrasaba la aparición de mucositis, disminuyendo así las interrupciones del tratamiento con radioterapia, y disminuía la necesidad de administración de mórfficos<sup>136</sup>.

En 2020, un grupo de investigación egipcio llevó a cabo otro ensayo clínico para estudiar la respuesta a la melatonina de pacientes con cáncer de cabeza y cuello tratados con radioterapia. Los resultados mostraron que el grupo que no recibió melatonina presentaba mucositis oral grave en un 30%, frente al 5% del grupo que sí que la recibió. Concluyeron entonces que la melatonina disminuyó la gravedad de la mucositis secundaria a radioterapia, así como un menor número de lesiones orales y de dolor<sup>137</sup>.

## CONCLUSIONES

La melatonina, constituye la principal hormona secretada por la glándula pineal. Entre las diversas acciones, la principal función sigue siendo la sincronización de los ritmos circadianos con los fenómenos ambientales, principalmente con la alternancia luz-oscuridad.

En relación con la melatonina se han descrito diferentes acciones en múltiples contextos biológicos, destacando entre ellas sus acciones oncostáticas. Entre los mecanismos de sus acciones antitumorales están sus acciones antiestrogénicas, las propiedades antioxidantes, la regulación del ciclo celular, la capacidad inmunoestimulante, el potencial antiangiogénico y la prevención de la disrupción de los ritmos circadianos.

La melatonina ha demostrado capacidad de aumentar la supervivencia y disminuir los efectos adversos inducidos por los tratamientos oncológicos convencionales, así como aumentar la sensibilidad de ciertos tumores a la quimioterapia, incluso convertir tumores resistentes en sensibles a estos agentes. Los efectos potenciadores por parte de la melatonina de los quimioterápicos permiten conseguir mayores efectos antitumorales con menores dosis de quimioterápicos, reduciendo así sus efectos adversos.

La melatonina sensibiliza también a las células tumorales a la radioterapia.

Debido a la baja toxicidad de la melatonina y la consistencia en los resultados de los ensayos clínicos y los trabajos en modelos animales e *in vitro*, la melatonina aparece como una hormona que podría llegar a utilizarse como adyuvante a tratamientos antitumorales como la quimioterapia y la radioterapia.

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, quisiera expresar mi agradecimiento al Dr. Samuel Cos Corral, director de este TFG, por su tiempo, orientación e implicación durante la realización de este trabajo. Gracias en especial a su amabilidad y eterna paciencia conmigo, además de su disponibilidad y cercanía.

También quiero dar las gracias a aquellos profesionales con los que he coincidido a lo largo de estos años y que han tenido la generosidad de compartir sus conocimientos conmigo, especialmente a los médicos con los que he rotado este último año por el hospital.

Me gustaría hacer una mención especial a las amistades que me llevo tras mi paso por Santander, sin duda, imprescindibles para llegar a este punto.

Por último, quiero dar las gracias a mi madre, porque si estoy aquí es por ella.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Goldstein DS. How does homeostasis happen? Integrative physiological, systems biological, and evolutionary perspectives. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2019 Apr 1;316(4):R301–R317.
2. Bernard C. Lectures on the Phenomena of Life Common to Animals and Vegetables. Charles C. Thomas, editor. Springfield; 1974.
3. Cardinali DP, Jordá Catalá JJ, Sánchez-Barceló EJ. Introducción a la cronobiología: fisiología de los ritmos biológicos. En: Servicio de publicación de la Universidad de Cantabria. Caja Cantabria.; 1994. p. 41–54.
4. López-Muñoz F, Marín F, Álamo C. Historia y humanidades. El devenir histórico de la glándula pineal: I. De válvula espiritual a sede del alma. *Rev Neurol*. 2010;50:50-70.
5. García-Porrero JA, Hurlé JM. Neuroanatomía Humana. 1<sup>º</sup> ed. Madrid: Médica panamericana; 2015.
6. Argüelles R, Bonmatí-Carrion MA. Melatonina, la hormona de la noche. *Rev Eubacteria*. 2015;(33).
7. Collado D. Ampliación de química orgánica avanzada. Química de heterocíclicos. Málaga;2014.
8. Tordjman S, Chokron S, Delorme R, Charrier A, Bellissant E, Jaafari N, et al. Melatonin: pharmacology, functions and therapeutic benefits. *Curr Neuropharmacol*. 2017 Apr;15(3):434–443.
9. Mediavilla MD, Sánchez-Barceló EJ, Tan DX, Manchester L, Reiter RJ. Basic mechanisms involved in the anti-cancer effects of melatonin. *Curr Med Chem*. 2010 Dec 1;17(36):4462–4481.
10. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018 Nov;68(6):394–424.
11. Gurunathan S, Qasim M, Kang MH, Kim JH. Role and therapeutic potential of melatonin in various type of cancers. *Onco Targets Ther*. 2021 Mar;14:2019–2052.
12. Chao CC, Chen PC, Chiou PC, Hsu CJ, Liu PI, Yang YC, et al. Melatonin suppresses lung cancer metastasis by inhibition of epithelial–mesenchymal transition through targeting to Twist. *Clin Sci (Lond)*. 2019 Mar 15;133(5):709–722.
13. Jablonska K, Nowinska K, Piotrowska A, Partynska A, Katnik E, Pawelczyk K, et al. Prognostic impact of melatonin receptors MT1 and MT2 in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Cancers (Basel)*. 2019 Jul 17;11(7):1001.
14. Pourhanifeh MH, Sharifi M, Reiter RJ, Davoodabadi A, Asemi Z. Melatonin and non-small cell lung cancer: new insights into signaling pathways. *Cancer Cell Int*. 2019 May 16;19(1):131.
15. Tamarkin L, Danforth D, Lichter A, DeMoss E, Cohen M, Chabner B, et al. Decreased nocturnal plasma melatonin peak in patients with estrogen receptor positive breast cancer. *Science*. 1982 May 28;216(4549):1003–5.
16. Jin Y, Choi YJ, Heo K, Park SJ. Melatonin as an oncostatic molecule based on its anti-aromatase role in breast cancer. *Int J Molecular Sci*. 2021 Jan 4;22(1):438.
17. Goyal R, Gupta T, Bal A, Sahni D, Singh G. Role of melatonin in breast carcinoma: correlation of expression patterns of melatonin-1 receptor with estrogen,

- progesterone, and HER2 receptors. *Appl Immunohistochem Mol Morph*. 2020 Aug;28(7):518–523.
18. Blask DE, Hill SM. Effects of melatonin on cancer: studies on MCF-7 human breast cancer cells in culture. *J Neural Transm Suppl*. 1986;21:433–449.
  19. Mediavilla MD, Cos S, Sánchez-Barceló EJ. Melatonin increases p53 and p21WAF1 expression in MCF-7 human breast cancer cells in vitro. *Life Sci*. 1999 Jun;65(4):415–420.
  20. Lee SE, Kim SJ, Youn JP, Hwang SY, Park CS, Park YS. MicroRNA and gene expression analysis of melatonin-exposed human breast cancer cell lines indicating involvement of the anticancer effect. *J Pineal Res*. 2011 Oct;51(3):345–352.
  21. Jardim-Perassi BV, Lourenço MR, Doho GM, Helen Grígolo IH, Gelaleti GB, Ferreira LC, et al. Melatonin regulates angiogenic factors under hypoxia in breast cancer cell lines. *Anticancer Agents Med Chem*. 2016 Feb 10;16(3):347–358.
  22. Hadadi E, Acloque H. Role of circadian rhythm disorders on EMT and tumour–immune interactions in endocrine-related cancers. *Endocr Relat Cancer*. 2021 Feb;28(2):R67–R80.
  23. Sigurdardottir LG, Markt SC, Rider JR, Haneuse S, Fall K, Schernhammer ES, et al. Urinary melatonin levels, sleep disruption, and risk of prostate cancer in elderly men. *Eur Urol*. 2015 Feb;67(2):191–194.
  24. Tai SY, Huang SP, Bao BY, Wu MT. Urinary melatonin-sulfate/cortisol ratio and the presence of prostate cancer: a case-control study. *Sci Rep*. 2016 Jul 8;6(1):29606.
  25. Sainz RM, Mayo JC, Tan DX, León J, Manchester L, Reiter RJ. Melatonin reduces prostate cancer cell growth leading to neuroendocrine differentiation via a receptor and PKA independent mechanism. *Prostate*. 2005 Apr 1;63(1):29–43.
  26. Rimler A, Culig Z, Levy-Rimler G, Lupowitz Z, Klocker H, Matzkin H, et al. Melatonin elicits nuclear exclusion of the human androgen receptor and attenuates its activity. *Prostate*. 2001 Oct 1;49(2):145–154.
  27. Shiu SYW, Law IC, Lau KW, Tam PC, Yip AWC, Ng WT. Melatonin slowed the early biochemical progression of hormone-refractory prostate cancer in a patient whose prostate tumor tissue expressed MT<sub>1</sub> receptor subtype. *J Pineal Res*. 2003 Oct;35(3):177–182.
  28. Paroni R, Terraneo L, Bonomini F, Finati E, Virgili E, Bianciardi P, et al. Antitumour activity of melatonin in a mouse model of human prostate cancer: relationship with hypoxia signalling. *J Pineal Res*. 2014 Aug;57(1):43–52.
  29. Tamarindo GH, Ribeiro DL, Gobbo MG, Guerra LHA, Rahal P, Taboga SR, et al. Melatonin and docosahexaenoic acid decrease proliferation of PNT1A prostate benign cells via modulation of mitochondrial bioenergetics and ROS production. *Oxid Med Cell Longev*. 2019 Jan 9;2019:5080798.
  30. Zharinov GM, Bogomolov OA, Chepurnaya IV, Neklasova NY, Anisimov VN. Melatonin increases overall survival of prostate cancer patients with poor prognosis after combined hormone radiation treatment. *Oncotarget*. 2020 Oct 13;11(41):3723–3729.
  31. Wang J, Guo W, Chen W, Yu W, Tian Y, Fu L, et al. Melatonin potentiates the antiproliferative and pro-apoptotic effects of ursolic acid in colon cancer cells by modulating multiple signaling pathways. *J Pineal Res*. 2013 May;54(4):406–416.

32. Winczyk K, Pawlikowski M, Guerrero JM, Karasek M. Possible involvement of the nuclear RZR/ROR- $\alpha$  receptor in the antitumor action of melatonin on murine colon 38 cancer. *Tumor Biol.* 2002;23(5):298–302.
33. Kumar CA, Das UN. Effect of melatonin on two stage skin carcinogenesis in Swiss mice. *Med Sci Monit.* 2000;6(3):471–475.
34. Kleszczyński K, Zwicker S, Tukaj S, Kasperkiewicz M, Zillikens D, Wolf R, et al. Melatonin compensates silencing of heat shock protein 70 and suppresses ultraviolet radiation-induced inflammation in human skin ex vivo and cultured keratinocytes. *J Pineal Res.* 2015 Jan;58(1):117–126.
35. Janjetovic Z, Jarrett SG, Lee EF, Duprey C, Reiter RJ, Slominski AT. Melatonin and its metabolites protect human melanocytes against UVB-induced damage: Involvement of NRF2-mediated pathways. *Sci Rep.* 2017 Apr 28;7(1):1274.
36. Martín-Renedo J, Mauriz JL, Jorquera F, Ruiz-Andrés O, González P, González-Gallego J. Melatonin induces cell cycle arrest and apoptosis in hepatocarcinoma HepG2 cell line. *J Pineal Res.* 2008 Nov;45(4):532–540.
37. Liu C, Jia Z, Zhang X, Hou J, Wang L, Hao S, et al. Involvement of melatonin in autophagy-mediated mouse hepatoma H22 cell survival. *Int Immunopharmacol.* 2012 Feb;12(2):394–401.
38. Fan L, Sun G, Ma T, Zhong F, Wei W. Melatonin overcomes apoptosis resistance in human hepatocellular carcinoma by targeting survivin and XIAP. *J Pineal Res.* 2013 Sep;55(2):174–183.
39. Carbajo-Pescador S, Ordoñez R, Benet M, Jover R, García-Palomo A, Mauriz JL, et al. Inhibition of VEGF expression through blockade of Hif1 $\alpha$  and STAT3 signalling mediates the anti-angiogenic effect of melatonin in HepG2 liver cancer cells. *Br J Cancer.* 2013 Jul 11;109(1):83–91.
40. Zhou H, Du W, Li Y, Shi C, Hu N, Ma S, et al. Effects of melatonin on fatty liver disease: The role of NR4A1/DNA-PKcs/p53 pathway, mitochondrial fission, and mitophagy. *J Pineal Res.* 2018 Jan;64(1):e12450.
41. Grin W, Grünberger W. A significant correlation between melatonin deficiency and endometrial cancer. *Gynecol Obstet Invest.* 1998;45(1):62–65.
42. Karasek M, Szuflet A, Chrzanowski W, Zylinska K, Swietoslowski J. Decreased melatonin nocturnal concentrations in hemodialyzed patients. *Neuro Endocrinol Lett.* 2005 Dec;26(6):653–656.
43. Anisimov VN, Zabezhinski MA, Popovich IG, Zaripova EA, Musatov SA, Andre V, et al. Inhibitory effect of melatonin on 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced carcinogenesis of the uterine cervix and vagina in mice and mutagenesis in vitro. *Cancer Lett.* 2000 Aug 11;156(2):199–205.
44. Bartsch H, Buchberger A, Franz H, Bartsch C, Maidonis I, Mecke D, et al. Effect of melatonin and pineal extracts on human ovarian and mammary tumor cells in a chemosensitivity assay. *Life Sci.* 2000 Nov;67(24):2953–2960.
45. Zonta Y, Martínez M, Camargo IC, Domeniconi RF, Lupi-Júnior LA, Pinheiro PF, et al. Melatonin reduces angiogenesis in serous papillary ovarian carcinoma of ethanol-preferring rats. *Int J Mol Sci.* 2017 Apr 11;18(4):763.
46. Cohen M, Lippman M, Chabner B. Role of pineal gland in etiology and treatment of breast cancer. *Lancet.* 1978 Oct 14;2(8094):814–816.

47. Rato AG, Pedrero JG, Martínez MA, del Río B, Lazo PS, Ramos S. Melatonin blocks the activation of estrogen receptor for DNA binding. *FASEB J.* 1999 May;13(8):857–868.
48. Molis TM, Spriggs LL, Hill SM. Modulation of estrogen receptor mRNA expression by melatonin in MCF-7 human breast cancer cells. *Mol Endocrinol.* 1994 Dec;8(12):1681–1690.
49. Kiefer T, Ram PT, Yuan L, Hill SM. Melatonin inhibits estrogen receptor transactivation and cAMP levels in breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat.* 2002 Jan;71(1):37–45.
50. del Río B, Pedrero JG, Martínez-Campa C, Zuazua P, Lazo PS, Ramos S. Melatonin, an endogenous-specific inhibitor of estrogen receptor  $\alpha$  via calmodulin. *J Biol Chem.* 2004 Sep;279(37):38294–38302.
51. Suzuki T, Miki Y, Nakamura Y, Moriya T, Ito K, Ohuchi N, et al. Sex steroid-producing enzymes in human breast cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2005 Dec;12(4):701–720.
52. Cos S, González A, Güezmez A, Mediavilla MD, Martínez-Campa C, Alonso-González C, et al. Melatonin inhibits the growth of DMBA-induced mammary tumors by decreasing the local biosynthesis of estrogens through the modulation of aromatase activity. *Int J Cancer.* 2006 Jan 15;118(2):274–278.
53. González A, Álvarez-García V, Martínez-Campa C, Mediavilla MD, Alonso-González C, Sánchez-Barceló EJ, et al. In vivo inhibition of the estrogen sulfatase enzyme and growth of DMBA-induced mammary tumors by melatonin. *Curr Cancer Drug Targets.* 2010 May 1;10(3):279–286.
54. Talib W. Melatonin and Cancer Hallmarks. *Molecules.* 2018 Feb 26;23(3):518.
55. Nguyen DX, Bos PD, Massagué J. Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization. *Nat Rev Cancer.* 2009 Apr;9(4):274–284.
56. Cos S, Verduga R, Fernández-Viadero C, Megías M, Crespo D. Effects of melatonin on the proliferation and differentiation of human neuroblastoma cells in culture. *Neurosci Lett.* 1996 Sep 27;216(2):113–116.
57. Cucina A, Proietti S, D'Anselmi F, Coluccia P, Dinicola S, Frati L, et al. Evidence for a biphasic apoptotic pathway induced by melatonin in MCF-7 breast cancer cells. *J Pineal Res.* 2009 Mar;46(2):172–180.
58. Xu C, Wu A, Zhu H, Fang H, Xu L, Ye J, et al. Melatonin is involved in the apoptosis and necrosis of pancreatic cancer cell line SW-1990 via modulating of Bcl-2/Bax balance. *Biomed Pharmacother.* 2013 Mar;67(2):133–139.
59. Leon-Blanco MM, Guerrero JM, Reiter RJ, Calvo JR, Pozo D. Melatonin inhibits telomerase activity in the MCF-7 tumor cell line both in vivo and in vitro. *J Pineal Res.* 2003 Oct;35(3):204–211.
60. Leon-Blanco MM, Guerrero JM, Reiter RJ, Pozo D. RNA expression of human telomerase subunits TR and TERT is differentially affected by melatonin receptor agonists in the MCF-7 tumor cell line. *Cancer Lett.* 2004 Dec 8;216(1):73–80.
61. Martínez-Campa C, Alonso-González C, Mediavilla MD, Cos S, González A, Sánchez-Barceló EJ. Melatonin down-regulates hTERT expression induced by either natural estrogens (17 $\beta$ -estradiol) or metalloestrogens (cadmium) in MCF-7 human breast cancer cells. *Cancer Lett.* 2008 Sep 18;268(2):272–277.

62. Rodriguez C, Mayo JC, Sainz RM, Antolín I, Herrera F, Martín V, et al. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J Pineal Res.* 2004 Jan;36(1):1–9.
63. Cavalieri E, Frenkel K, Liehr JG, Rogan E, Roy D. Chapter 4: Estrogens as endogenous genotoxic agents-DNA adducts and mutations. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2000 Jul 1;(27):75–94.
64. Dai M, Cui P, Yu M, Han J, Li H, Xiu R. Melatonin modulates the expression of VEGF and HIF-1 $\alpha$  induced by CoCl<sub>2</sub> in cultured cancer cells. *J Pineal Res.* 2008 Mar;44(2):121–126.
65. Park JW, Hwang MS, Suh SI, Baek WK. Melatonin down-regulates HIF-1 $\alpha$  expression through inhibition of protein translation in prostate cancer cells. *J Pineal Res.* 2009 May;46(4):415–421.
66. Erren TC, Reiter RJ. Defining chronodisruption. *J Pineal Res.* 2009 Apr;46(3):245–247.
67. Chen-Goodspeed M, Lee CC. Tumor suppression and circadian function. *J Biol Rhythms.* 2007 Aug 29;22(4):291–298.
68. Cos S, Mediavilla D, Martínez-Campa C, González A, Alonso-González C, Sánchez-Barceló EJ. Exposure to light-at-night increases the growth of DMBA-induced mammary adenocarcinomas in rats. *Cancer Lett.* 2006 Apr;235(2):266–271.
69. Cos S, Fernández R, Sánchez-Barceló EJ. Influence of melatonin on invasive and metastatic properties of MCF-7 human breast cancer cells. *Cancer Res.* 1998 Oct 1;58(19):4383-4390.
70. Hill SM, Frasch T, Xiang S, Yuan L, Duplessis T, Mao L. Molecular mechanisms of melatonin anticancer effects. *Integr Cancer Ther.* 2009 Dec 29;8(4):337–346.
71. Kvetnoy IM. Extrapineal melatonin: location and role within diffuse neuroendocrine system. *Histochem J.* 1999 Jan;31(1):1–12.
72. García-Mauriño S, González-Haba MG, Calvo JR, Rafii-El-Ldrissi M, Sánchez-Margalet V, Goberna R, et al. Melatonin enhances IL-2, IL-6, and IFN- $\gamma$  production by human circulating CD4<sup>+</sup> cells: a possible nuclear receptor-mediated mechanism involving T helper type 1 lymphocytes and monocytes. *J Immunol.* 1997 Jul 15;159(2):574-581.
73. Mediavilla MD, Güezmez A, Ramos S, Kothari L, Garijo F, Sánchez-Barceló EJ. Effects of melatonin on mammary gland lesions in transgenic mice overexpressing N-rasproto-oncogene. *J Pineal Res.* 1997 Mar;22(2):86–94.
74. Deng WG, Tang ST, Tseng HP, Wu KK. Melatonin suppresses macrophage cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase expression by inhibiting p52 acetylation and binding. *Blood.* 2006 Jul 15;108(2):518–524.
75. Blask DE, Dauchy RT, Sauer LA, Krause JA. Melatonin uptake and growth prevention in rat hepatoma 7288CTC in response to dietary melatonin: melatonin receptor-mediated inhibition of tumor linoleic acid metabolism to the growth signaling molecule 13-hydroxyoctadecadienoic acid and the potential role of phytomelatonin. *Carcinogenesis.* 2004 Feb 4;25(6):951–960.
76. González A, Alonso-González C, González-González A, Menéndez-Menéndez J, Cos S, Martínez-Campa C. Melatonin as an adjuvant to antiangiogenic cancer treatments. *Cancers (Basel).* 2021 Jun 29;13(13):3263.
77. Gelaleti GB, Borin TF, Maschio-Signorini LB, Moschetta MG, Hellmén E, Vilorio-Petit AM, et al. Melatonin and IL-25 modulate apoptosis and angiogenesis

- mediators in metastatic (CF-41) and non-metastatic (CMT-U229) canine mammary tumour cells. *Vet Comp Oncol.* 2017 Dec 1;15(4):1572–1584.
78. Casado-Zapico S, Rodríguez-Blanco J, García-Santos G, Martín V, Sánchez-Sánchez AM, Antolín I, et al. Synergistic antitumor effect of melatonin with several chemotherapeutic drugs on human Ewing sarcoma cancer cells: potentiation of the extrinsic apoptotic pathway. *J Pineal Res.* 2010 Jan;48(1):72–80.
  79. Proietti S, Cucina A, D'Anselmi F, Dinicola S, Pasqualato A, Lisi E, et al. Melatonin and vitamin D 3 synergistically down-regulate Akt and MDM2 leading to TGF $\beta$ -1-dependent growth inhibition of breast cancer cells. *J Pineal Res.* 2011 Mar;50(2):150–158.
  80. González-González A, González A, Rueda N, Alonso-González C, Menéndez-Menéndez J, Martínez-Campa C, et al. Usefulness of melatonin as complementary to chemotherapeutic agents at different stages of the angiogenic process. *Sci Rep.* 2020 Mar 16;10(1):4790.
  81. Margheri M, Pacini N, Tani A, Nosi D, Squecco R, Dama A, et al. Combined effects of melatonin and all-trans retinoic acid and somatostatin on breast cancer cell proliferation and death: molecular basis for the anticancer effect of these molecules. *Eur J Pharmacol.* 2012 Apr;681(1–3):34–43.
  82. Menéndez-Menéndez J, Hermida-Prado F, Granda-Díaz R, González A, Pedrero JG, Del-Río-Ibisate N, et al. Deciphering the molecular basis of melatonin protective effects on breast cells treated with doxorubicin: TWIST1 a transcription factor involved in EMT and metastasis, a novel target of melatonin. *Cancers (Basel).* 2019 Jul 1;11(7):1011.
  83. Sabzichi M, Samadi N, Mohammadian J, Hamishehkar H, Akbarzadeh M, Molavi O. Sustained release of melatonin: a novel approach in elevating efficacy of tamoxifen in breast cancer treatment. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2016 Sep 1;145:64–71.
  84. Gao Y, Xiao X, Zhang C, Yu W, Guo W, Zhang Z, et al. Melatonin synergizes the chemotherapeutic effect of 5-fluorouracil in colon cancer by suppressing PI3K/AKT and NF- $\kappa$ B/iNOS signaling pathways. *J Pineal Res.* 2017 Mar 1;62(2).
  85. Lu YX, Chen DL, Wang DS, Chen LZ, Mo HY, Sheng H, et al. Melatonin enhances sensitivity to fluorouracil in oesophageal squamous cell carcinoma through inhibition of Erk and Akt pathway. *Cell Death Dis.* 2016 Oct 27;7(10):e2432.
  86. Moloudizargari M, Moradkhani F, Hekmatirad S, Fallah M, Asghari MH, Reiter RJ. Therapeutic targets of cancer drugs: modulation by melatonin. *Life Sci.* 2021 Feb 15;267:118934.
  87. Jadid MF, Aghaei E, Taheri E, Seyyedsani N, Chavoshi R, Abbasi S, et al. Melatonin increases the anticancer potential of doxorubicin in Caco-2 colorectal cancer cells. *Environ Toxicol.* 2021 Jun 1;36(6):1061–1069.
  88. Lee JH, Yoon YM, Han YS, Yun CW, Lee SH. Melatonin promotes apoptosis of oxaliplatin-resistant colorectal cancer cells through inhibition of cellular prion protein. *Anticancer Res.* 2018 Apr 1;38(4):1993–2000.
  89. Pariente R, Pariente JA, Rodríguez AB, Espino J. Melatonin sensitizes human cervical cancer HeLa cells to cisplatin-induced cytotoxicity and apoptosis: effects on oxidative stress and DNA fragmentation. *J Pineal Res.* 2016 Jan 1;60(1):55–64.
  90. Pariente R, Bejarano I, Espino J, Rodríguez AB, Pariente JA. Participation of MT3 melatonin receptors in the synergistic effect of melatonin on cytotoxic and

- apoptotic actions evoked by chemotherapeutics. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2017 Nov 1;80(5):985–998.
91. Zhao Q, Wang W, Cui J. Melatonin enhances TNF- $\alpha$ -mediated cervical cancer HeLa cells death via suppressing CaMKII/Parkin/mitophagy axis. *Cancer Cell Int*. 2019 Mar 14;19(1):58.
  92. Chen L, Liu L, Li Y, Gao J. Melatonin increases human cervical cancer HeLa cells apoptosis induced by cisplatin via inhibition of JNK/Parkin/mitophagy axis. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 2018 Jan 1;54(1):1–10.
  93. Kim JH, Jeong SJ, Kim B, Yun SM, Choi DY, Kim SH. Melatonin synergistically enhances cisplatin-induced apoptosis via the dephosphorylation of ERK/p90 ribosomal S6 kinase/heat shock protein 27 in SK-OV-3 cells. *J Pineal Res*. 2012 Mar;52(2):244–252.
  94. Chuffa LG, Alves MS, Martínez M, Camargo IC, Pinheiro PF, Domeniconi RF, et al. Apoptosis is triggered by melatonin in an in vivo model of ovarian carcinoma. *Endocr Relat Cancer*. 2016 Feb;23(2):65-67.
  95. Fan L, Sun G, Ma T, Zhong F, Lei Y, Li X, et al. Melatonin reverses tunicamycin-induced endoplasmic reticulum stress in human hepatocellular carcinoma cells and improves cytotoxic response to doxorubicin by increasing CHOP and decreasing survivin. *J Pineal Res*. 2013 Sep;55(2):184–194.
  96. Hao J, Li Z, Zhang C, Yu W, Tang Z, Li Y, et al. Targeting NF- $\kappa$ B/AP-2 $\beta$  signaling to enhance antitumor activity of cisplatin by melatonin in hepatocellular carcinoma cells. *Am J Cancer Res*. 2017;7(1):13–27.
  97. Prieto-Domínguez N, Ordóñez R, Fernández A, Méndez-Blanco C, Baulies A, García-Ruiz C, et al. Melatonin-induced increase in sensitivity of human hepatocellular carcinoma cells to sorafenib is associated with reactive oxygen species production and mitophagy. *J Pineal Res*. 2016 Oct 1;61(3):396–407.
  98. Lin S, Hoffmann K, Gao C, Petrulionis M, Herr I, Schemmer P. Melatonin promotes sorafenib-induced apoptosis through synergistic activation of JNK/c-jun pathway in human hepatocellular carcinoma. *J Pineal Res*. 2017 Apr 1;62(3).
  99. Fang Z, Jung KH, Yan HH, Kim SJ, Rumman M, Park JH, et al. Melatonin synergizes with sorafenib to suppress pancreatic cancer via melatonin receptor and PDGFR- $\beta$ /STAT3 pathway. *Cellular Physiol Biochem*. 2018;47(5):1751–1768.
  100. Yi C, Zhang Y, Yu Z, Xiao Y, Wang J, Qiu H, et al. Melatonin enhances the anti-tumor effect of fisetin by inhibiting COX-2/iNOS and NF- $\kappa$ B/p300 signaling pathways. *PLoS One*. 2014 Jul 7;9(7):e99943.
  101. Kubatka P, Bojková B, Kassayová M, Orendáš P, Kajo K, Výbohová D, et al. Combination of pitavastatin and melatonin shows partial antineoplastic effects in a rat breast carcinoma model. *Acta Histochem*. 2014 Oct 1;116(8):1454–1461.
  102. Rahimi SB, Mohebbi A, Vakilzadeh G, Biglari P, Jahromi SR, Mohebi SR, et al. Enhancement of therapeutic DNA vaccine potency by melatonin through inhibiting VEGF expression and induction of antitumor immunity mediated by CD8+ T cells. *Arch Virol*. 2018 Mar 1;163(3):587–597.
  103. Talib WH. A ketogenic diet combined with melatonin overcomes cisplatin and vincristine drug resistance in breast carcinoma syngraft. *Nutrition*. 2020 Apr 1;72:110659.
  104. Gulbahce-Mutlu E, Baltaci SB, Menevse E, Mogulkoc R, Baltaci AK. The effect of zinc and melatonin administration on lipid peroxidation, IL-6 levels, and element

- metabolism in DMBA-Induced breast cancer in rats. *Biol Trace Elem Res.* 2021 Mar 1;199(3):1044–1051.
105. Man'cheva TA, Demidov D v, Plotnikova NA, Kharitonova TV, Pashkevich IV, Anisimov VN, et al. Melatonin and metformin inhibit skin carcinogenesis and lipid peroxidation induced by benz(a)pyrene in female mice. *Bull Exp Biol Med.* 2011 Jul;151(3):363-365.
  106. Hao J, Fan W, Li Y, Tang R, Tian C, Yang Q, et al. Melatonin synergizes BRAF-targeting agent vemurafenib in melanoma treatment by inhibiting iNOS/hTERT signaling and cancer-stem cell traits. *J Exp Clin Cancer Res.* 2019 Feb 4;38(1):48.
  107. Subramanian P, Mirunalini S, Dakshayani KB, Pandi-Perumal SR, Trakht I, Cardinali DP. Prevention by melatonin of hepatocarcinogenesis in rats injected with N-nitrosodiethylamine. *J Pineal Res.* 2007 Oct;43(3):305–312.
  108. Jang H, Lee OH, Lee Y, Yoon H, Chang EM, Park M, et al. Melatonin prevents cisplatin-induced primordial follicle loss via suppression of PTEN/AKT/FOXO3a pathway activation in the mouse ovary. *J Pineal Res.* 2016 Apr 1;60(3):336–347.
  109. Jang H, Na Y, Hong K, Lee S, Moon S, Cho M, et al. Synergistic effect of melatonin and ghrelin in preventing cisplatin-induced ovarian damage via regulation of FOXO3a phosphorylation and binding to the p27Kip1 promoter in primordial follicles. *J Pineal Res.* 2017 Oct;63(3):e12432.
  110. Wang X, Wang B, Zhan W, Kang L, Zhang S, Chen C, et al. Melatonin inhibits lung metastasis of gastric cancer in vivo. *Biomed Pharmacother.* 2019 Sep;117:109018.
  111. Lissoni P, Barni G, Cattaneo G, Tancini G, Esposti G, Esposti D, et al. Clinical Results with the Pineal Hormone Melatonin in Advanced Cancer Resistant to Standard Antitumor Therapies. *Oncology.* 1991;48(6):448-450.
  112. González R, Sánchez A, Ferguson JA, Balmer C, Daniel C, Cohn A, et al. Melatonin therapy of advanced human malignant melanoma. *Melanoma Res.* 1991 Nov;1(4):237–243.
  113. Lissoni P, Tisi E, Barni S, Ardizzoia A, Rovelli F, Rescaldani R, et al. Biological and clinical results of a neuroimmunotherapy with interleukin-2 and the pineal hormone melatonin as a first line treatment in advanced non-small cell lung cancer. *Br J Cancer.* 1992 Jul;66(1):155-158.
  114. Lissoni P, Ardizzoia A, Barni S, Tancini G, Muttini M. Immunotherapy with subcutaneous low dose interleukin-2 plus melatonin as salvage therapy of heavily chemotherapy-pretreated ovarian cancer. *Oncology Rep.* 1996 Sep 1;3(5):947-949.
  115. Lissoni P, Paolorossi F, Tancini G, Ardizzoia A, Barni S, Brivio F, et al. A phase II study of tamoxifen plus melatonin in metastatic solid tumour patients. Vol. 74, *British Journal of Cancer.* 1996 Nov;74(9):1466-1468.
  116. Lissoni P, Tancini G, Barni S, Paolorossi F, Ardizzoia A, Conti A, et al. Treatment of cancer chemotherapy-induced toxicity with the pineal hormone melatonin. *Support Care Cancer.* 1997 Mar;5(2):126-129.
  117. Yan JJ, Shen F, Wang K, Wu MC. Patients with advanced primary hepatocellular carcinoma treated by melatonin and transcatheter arterial chemoembolization: a prospective study. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2002 May;1(2):183–186.
  118. Lissoni P. Biochemotherapy with standard chemotherapies plus the pineal hormone melatonin in the treatment of advanced solid neoplasms. *Pathol Biol (Paris).* 2007 Apr;55(3–4):201–204.

119. Lissoni P, Chillelli M, Villa S, Cerizza L, Tancini G. Five years survival in metastatic non-small cell lung cancer patients treated with chemotherapy alone or chemotherapy and melatonin: a randomized trial. *J Pineal Res.* 2003 Aug;35(1):12-15.
120. Cerea G, Vaghi M, Ardizzoia A, Villa S, Bucovec R, Mengo S, et al. 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 Res.* 2003;23(2C):1951–1954.
121. Seely D, Wu P, Fritz H, Kennedy DA, Tsui T, Seely AJE, et al. Melatonin as adjuvant cancer care with and without chemotherapy: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Integr Cancer Ther.* 2012 Dec 21;11(4):293–303.
122. González-González A, González A, Rueda N, Alonso-González C, Menéndez-Menéndez J, Gómez-Arozamena J, et al. Melatonin enhances the usefulness of ionizing radiation: involving the regulation of different steps of the angiogenic process. *Front Physiol.* 2019 Jul 11;10:879.
123. Alonso-González C, Menéndez-Menéndez J, González-González A, González A, Cos S, Martínez-Campa C. Melatonin enhances the apoptotic effects and modulates the changes in gene expression induced by docetaxel in MCF-7 human breast cancer cells. *Int J Oncol.* 2018 Feb 1;52(2):560–570.
124. Álvarez-García V, González A, Martínez-Campa C, Alonso-González C, Cos S. Melatonin modulates aromatase activity and expression in endothelial cells. *Oncol Rep.* 2013 May;29(5):2058–2064.
125. Álvarez-García V, González A, Alonso-González C, Martínez-Campa C, Cos S. Regulation of vascular endothelial growth factor by melatonin in human breast cancer cells. *J Pineal Res.* 2013 May;54(4):373–380.
126. Martínez-Campa C, Menéndez-Menéndez J, Alonso-González C, González A, Álvarez-García V, Cos S. What is known about melatonin, chemotherapy and altered gene expression in breast cancer. *Oncol Lett.* 2017 Apr;13(4):2003-2014.
127. Alonso-González C, González A, Martínez-Campa C, Gómez-Arozamena J, Cos S. Melatonin sensitizes human breast cancer cells to ionizing radiation by downregulating proteins involved in double-strand DNA break repair. *J Pineal Res.* 2015 Mar;58(2):189–197.
128. Wang Q, Sun Z, Du L, Xu C, Wang Y, Yang B, et al. Melatonin sensitizes human colorectal cancer cells to  $\gamma$ -ray ionizing radiation in vitro and in vivo. *Int J Mol Sci.* 2018 Dec 1;19(12):3974.
129. González-González A, Nieto EG, González A, Sánchez-Fernández C, Alonso-González C, Menéndez-Menéndez J, et al. Melatonin modulation of radiation and chemotherapeutics-induced changes on differentiation of breast fibroblasts. *Int J Mol Sci.* 2019 Aug 2;20(16):3935.
130. Sener G, Jahovic N, Tosun O, Atasoy BM, Yeğen BÇ. Melatonin ameliorates ionizing radiation-induced oxidative organ damage in rats. *Life Sci.* 2003 Dec 19;74(5):563–572.
131. Ortiz F, Acuña-Castroviejo D, Doerrier C, Dayoub JC, López LC, Venegas C, et al. Melatonin blunts the mitochondrial/NLRP3 connection and protects against radiation-induced oral mucositis. *J Pineal Res.* 2015;58(1):34–49.

132. Wang Q, Wang Y, Du L, Xu C, Liu Q, Fan S. The effects of melatonin administration on intestinal injury caused by abdominal irradiation from mice. *Int J Mol Sci*. 2021 Sep 8;22(18):9715.
133. Tripathi AM, Khan S, Chaudhury NK. Radiomitigation by melatonin in C57BL/6 mice: possible implications as adjuvant in radiotherapy and chemotherapy. *In Vivo*. 2022 Apr 27;36(3):1203–1221.
134. Lissoni P, Meregalli S, Nosetto L, Barni S, Tancini G, Fossati V, et al. Increased survival time in brain glioblastomas by a radioneuroendocrine strategy with radiotherapy plus melatonin compared to radiotherapy alone. *Oncology*. 1996;53(1):43–46.
135. Lissoni P, Rovelli F, Brivio F, Fumagalli L, Brera G. A study of immunoendocrine strategies with pineal indoles and interleukin-2 to prevent radiotherapy-induced lymphocytopenia in cancer patients. *In Vivo*. 2008;22(3):397–400.
136. Onseong K, Johns NP, Khuayjarernpanishk T, Subongkot S, Priprem A, Hurst C, et al. Beneficial effects of adjuvant melatonin in minimizing oral mucositis complications in head and neck cancer patients receiving concurrent chemoradiation. *J Altern Complement Med*. 2017 Dec;23(12):957–963.
137. Elsabagh HH, Moussa E, Mahmoud SA, Elsaka RO, Abdelrahman H. Efficacy of melatonin in prevention of radiation-induced oral mucositis: a randomized clinical trial. *Oral Dis*. 2020 Apr 1;26(3):566–572.
138. Habibi NK, Monfared AS, Gorji KE, Karimi M, Moghadamnia AA, Tourani M, et al. The protective effects of melatonin on blood cell counts of rectal cancer patients following radio-chemotherapy: a randomized controlled trial. *Clin Transl Oncol*. 2019 Jun 12;21(6):745–752.