



FACULTAD DE MEDICINA  
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

**GRADO EN MEDICINA**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**MELATONINA Y QUIMIOTERAPIA**

MELATONIN AND CHEMOTHERAPY

**Autora:** Blanca Sierra Díaz-Vargas

**Director:** Samuel Cos Corral

**Santander, Junio 2023**

## ÍNDICE:

<b>1. RESUMEN .....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>2</b>
<b>3. METODOLOGÍA.....</b>	<b>2</b>
<b>4. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>2</b>
4.1. Síntesis, secreción, transporte y metabolismo de la melatonina .....	3
4.2. Regulación de la síntesis de melatonina .....	5
4.3. Mecanismos de acción .....	7
4.4. Acciones .....	8
<b>5. MECANISMOS DE LOS EFECTOS ANTITUMORALES DE LA MELATONINA .....</b>	<b>10</b>
5.1. Acciones antiestrogénicas de la melatonina .....	11
5.2. Modulación del ciclo celular: proliferación, diferenciación y apoptosis .....	12
5.3. Inhibición de la actividad de la telomerasa.....	13
5.4. Efectos antioxidantes .....	13
5.5. Antiangiogénesis .....	14
5.6. Prevención de la disrupción de los ritmos circadianos .....	15
5.7. Inhibición de la metástasis.....	15
5.8. Efectos inmunoestimulantes.....	16
5.9. Factores epigenéticos .....	17
5.10. Transporte y metabolismo de ácidos grasos.....	17
<b>6. MELATONINA COMO ADYUVANTE A LA QUIMIOTERAPIA EN EL CÁNCER .....</b>	<b>18</b>
6.1. Melatonina y quimioterapia en estudios <i>in vitro</i> .....	19
6.2. Melatonina y quimioterapia en estudios <i>in vivo</i> .....	27
6.3. Melatonina y quimioterapia en ensayos clínicos .....	32
<b>7. CONCLUSIONES.....</b>	<b>42</b>
<b>8. AGRADECIMIENTOS .....</b>	<b>43</b>
<b>9. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>44</b>

## **1. RESUMEN**

La melatonina es una hormona sintetizada principalmente en la glándula pineal. Esta hormona ejerce funciones muy relevantes en una gran variedad de procesos biológicos. Una de las acciones importantes descritas de la melatonina es sus efectos oncostáticos, inhibiendo la génesis y el desarrollo de una gran variedad de tumores, particularmente hormonodependientes. La melatonina ejerce sus acciones beneficiosas contra el cáncer a través de diferentes mecanismos, destacando sus acciones de carácter antiestrogénica, proapoptótica, antioxidante, antiangiogénica, antiproliferativa y antimetastásica.

En este trabajo se realiza una revisión sistemática de estudios *in vivo*, *in vitro* y ensayos clínicos para analizar el impacto clínico de la melatonina y su futuro uso como línea terapéutica.

Los resultados muestran que la melatonina es un compuesto efectivo como adyuvante de la quimioterapia, ya que favorece la regresión tumoral, prolonga la supervivencia de los pacientes y mejora su calidad de vida. Además, la melatonina reduce la aparición de efectos secundarios consecuencia de los quimioterápicos.

**Palabras Clave:** melatonina, cáncer, quimioterapia, adyuvante.

### **ABSTRACT**

Melatonin is a hormone synthesized mainly in the pineal gland. This hormone exerts very relevant functions in a great variety of biological processes. One of the important actions described by melatonin is its oncostatic effects, inhibiting the genesis and development of a wide variety of tumors, particularly hormone-dependent. Melatonin exerts beneficial actions against cancer through different mechanisms highlighting its antiestrogenic, apoptotic, antioxidant, antiangiogenic, antiproliferative, and antimetastatic actions.

The present work carried out a systematic review of *in vivo* and *in vitro* studies and clinical trials to analyze the clinical impact of melatonin and its future perspectives.

The results show that melatonin is an effective compound as an adjuvant to chemotherapy, since it promotes tumor regression, prolongs patient survival and improves their quality of life. In addition, melatonin reduces the appearance of side effects resulting from chemotherapy.

**Key Words:** melatonin, cancer, chemotherapy, adjuvant.

## **2. OBJETIVOS**

El cáncer es la segunda causa de muerte en el mundo. La quimioterapia, la radioterapia y la cirugía son los principales tratamientos, pero muchas veces su eficacia puede ser limitada y son responsables de muchos efectos secundarios. Esto ha provocado que se estén buscando otras alternativas que sean efectivas y más seguras (1,2).

El principal objetivo de este trabajo es analizar el efecto oncostático de la melatonina como adyuvante a la quimioterapia. Para ello hemos realizado una revisión bibliográfica sobre el funcionamiento de la melatonina, sus efectos antitumorales y su aplicación como tratamiento adyuvante a la quimioterapia.

Por lo tanto, comenzaré haciendo una breve introducción sobre la glándula pineal y la melatonina, para después poder hablar de sus funciones más importantes. A continuación, me centraré en la función antitumoral, comentando cuáles son sus mecanismos de acción y revisando diferentes estudios dónde se ha utilizado como tratamiento adyuvante a la quimioterapia.

## **3. METODOLOGÍA**

Este trabajo se ha llevado a cabo mediante una revisión bibliográfica de la literatura en las bases de datos PubMed y Scopus. La mayor parte de los artículos han sido extraídos de publicaciones de revistas científicas de alto impacto.

Para efectuar esta búsqueda bibliográfica se han empleado las palabras clave: *melatonin, cancer, pineal gland, melatonin actions, chemotherapy, clinical trials*.

## **4. INTRODUCCIÓN**

Durante miles de años la glándula pineal ha sido centro de interés de estudio. Desde el año 300 AC, donde Herófilo y Erasítrato describieron la glándula pineal, hasta el siglo XVII donde Descartes describió la glándula pineal como el **transductor neuroendocrino** que hoy en día conocemos (3).

La glándula pineal produce principalmente melatonina, una indolamina que destaca por su efecto cronobiótico. Gracias a ella todas las células de nuestro organismo reciben información de la duración del día y de la noche, permitiendo la sincronización de nuestros ritmos circadianos (4).

En las últimas décadas esta hormona ha adquirido especial interés, ya que se ha descubierto su posible implicación en la industria ganadera, en los trastornos cronobiológicos y en algunos tipos de cánceres (3).

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

La glándula pineal se origina de una evaginación del techo del diencéfalo (3).

Anatómicamente, se encuentra inferior al borde posterior del cuerpo caloso y medial a los tubérculos cuadrigéminos superiores. Se sitúa por dentro de la piamadre, por donde recibe la vascularización e inervación (3).

Es un órgano circunventricular, aunque esté fuera de la barrera hematoencefálica se comunica con el tercer ventrículo (3).

Está compuesta en su gran mayoría por pinealocitos, encargados de producir la melatonina. En menor medida vamos a encontrar células gliales, terminaciones nerviosas y vasculares (3). Aunque la glándula pineal pueda sintetizar hormonas peptídicas, el principal producto de esta glándula son las indolaminas. Los pinealocitos captan el **triptófano** que será convertido en serotonina y 5-hidroxitriptófano (3).

La serotonina va a ser la precursora de la melatonina mediante 2 reacciones (3):

- La serotonina por medio de la enzima serotonina-N-acetiltransferasa (SNAT) pasa a N-acetilserotonina.
- La N-acetilserotonina se convierte en N-acetil-5-metoxitriptamina (melatonina) por la hidroxindol-O-metiltransferasa (HIOMT).

La SNAT es la principal enzima limitante en la síntesis de la melatonina (3,5). Además, también existen otros factores que pueden restringir su formación, como la disponibilidad del triptófano y otras coenzimas, por ejemplo, la vitamina B6 (5).

La HIOMT también se encuentra presente en otros órganos como la retina, el intestino, o las glándulas lacrimales, por lo que la melatonina también se puede sintetizar, en menor medida, fuera de la glándula pineal. En casos de pinealectomías se ha visto que los niveles de melatonina son prácticamente inexistentes (3).

La melatonina al ser una molécula anfipática es secretada en su totalidad, no se almacena. Debido a la localización de la glándula pineal, la melatonina sintetizada se puede secretar a la sangre y al líquido cefalorraquídeo (4).

Se han descrito 3 tipos de secreción de melatonina en los mamíferos donde el pico de esta indolamina coincide con el periodo de oscuridad, lo podemos observar en la *Figura 1*. Estas variaciones en la concentración de melatonina se dan en gran medida a nivel pineal, pero también se pueden diferenciar oscilaciones plasmáticas (3):

- TIPO I: típico del hámster, ratón doméstico.

Al cabo de unas horas de entrar en la fase de oscuridad se puede observar un aumento progresivo de la melatonina, hasta llegar al pico de secreción. Después comienza a descender para llegar a sus niveles basales antes de acabar la noche.

- TIPO II: humano.

También tenemos un pico de melatonina en el periodo de oscuridad, pero este se produce en medio de la noche. Al acabar la fase de luz y comenzar la oscuridad, la melatonina empieza a ascender progresivamente hasta alcanzar su pico (2-6 am), después irá disminuyendo gradualmente antes de entrar de nuevo en la fase de luz.

- TIPO III: oveja, gatos.

Casi al comienzo de la fase de oscuridad hay una gran subida de la melatonina, produciendo una meseta, es decir, se mantiene elevada durante toda la noche. Volverá a descender antes de la fase de luz.

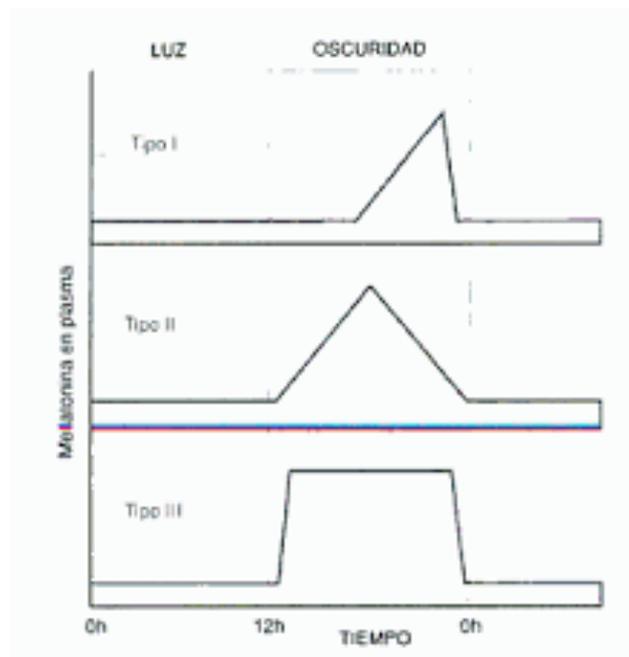


Figura 1. Patrones de secreción de la melatonina. Tomada de R.A. Solis, 1992; Fisiología humana, J.A.F. Tresguerres, ed. (3).

El pico de melatonina va a estar influido por varios factores como la edad, el ciclo menstrual, el estilo de vida, la ocupación, el tipo de luz o el estrés. Además, también es importante mencionar que existen grandes diferencias entre individuos (3).

Su síntesis es máxima en niños entre 3-6 años. Después, a medida que pasan los años el pico de producción va disminuyendo progresivamente hasta llegar a la edad adulta, pudiendo llegar a niveles mínimos en los más añosos (5).

En la sangre se transporta unida a la albúmina (4) y en un menor porcentaje libre (3). La melatonina atraviesa muy bien las membranas plasmáticas, así que se distribuye por todo el organismo pudiendo llegar al sistema nervioso central porque puede atravesar la barrera hematoencefálica (5).

Su metabolización (Figura 2) se produce en el cerebro y en el hígado (4):

- En el cerebro la melatonina se metaboliza a N1-acetil-N2-formil-5-metoxitriptamina (AFMK), que tiene una gran relevancia por su actividad antioxidante.
- En el hígado por medio de la Cyp1A2 se convierte en 6-hidroximelatonina, que se excreta por la orina como 6-sulfatoximelatonina.

La concentración del metabolito urinario es un buen método no invasivo para evaluar la función de la glándula, ya que tiene una buena correlación con su síntesis (3,4).

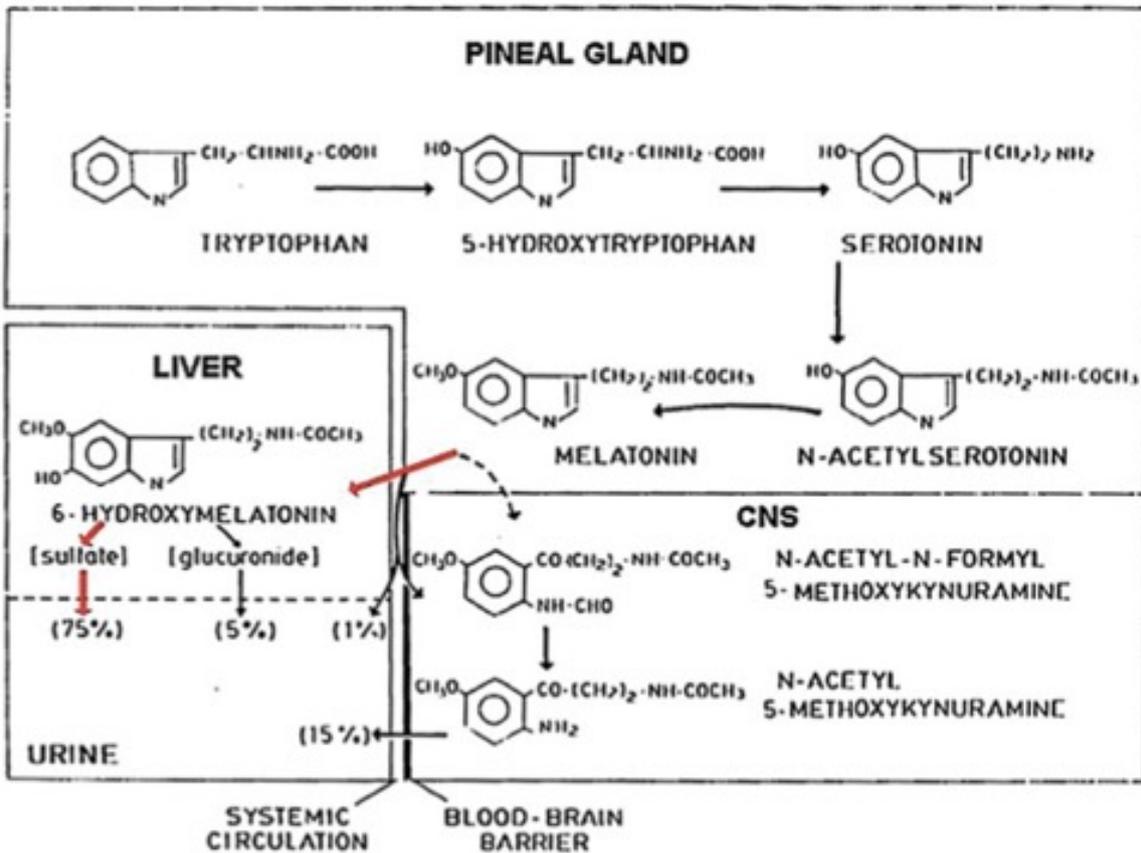


Figura 2. Metabolismo de la melatonina (5).

## 4.2. REGULACIÓN DE LA SÍNTESIS DE MELATONINA

La melatonina tiene un ritmo que depende de las fases de luz y oscuridad, de manera que durante el día los niveles de melatonina son bajos, mientras que por la noche se produce su síntesis (3).

La regulación de la síntesis de melatonina es principalmente neural, sobre todo se lleva a cabo por el sistema nervioso simpático. También hay una regulación hormonal complementaria (3).

La luz es la encargada de regular nuestro reloj endógeno, el núcleo supraquiasmático, siendo la **falta de luz** el estímulo necesario para la producción de melatonina (5). En la retina se captan los estímulos lumínicos que, por medio de fibras simpáticas postganglionares, van a llegar a la glándula pineal (3) (Figura 3).

El estímulo que se inicia en la retina comienza su recorrido por el tracto retinohipotalámico para llegar al **núcleo supraquiasmático**. Después pasará por el núcleo paraventricular y por la formación reticular de la médula hasta llegar al ganglio cervical superior. De este salen fibras simpáticas postganglionares que inervan de la glándula pineal (3).

El neurotransmisor simpático que participa en este proceso es la noradrenalina, aunque las fibras simpáticas también pueden secretar neuropéptido Y (5).

En la fase de luz, la señal lumínica llega al núcleo supraquiasmático, activándolo. Este envía señales inhibitorias a la glándula pineal. En cambio, cuando entramos en la fase de oscuridad, el núcleo supraquiasmático no es activado, por lo tanto, no puede enviar señales inhibitorias, así que se activa la producción y la secreción de melatonina (3).

La secreción de noradrenalina estimula los receptores  $\beta$  adrenérgicos, produciendo la síntesis y activación de los enzimas que intervienen en la síntesis de melatonina (SNAT y HIOMT). A lo largo de la noche, se va produciendo una *down-regulation*, disminuyéndose los receptores  $\beta$  adrenérgicos (3).

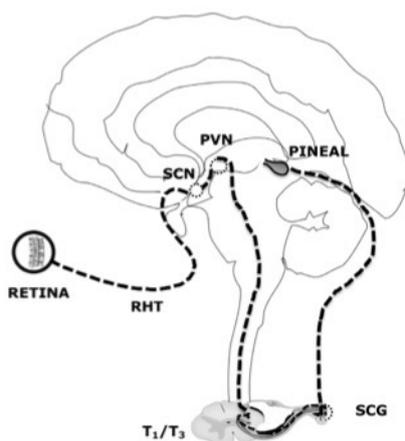


Figura 3. Regulación simpática de la síntesis de melatonina. RHT: tracto retinohipotalámico. SCN: núcleo supraquiasmático. PVH: núcleo paraventricular. SCG: ganglio cervical superior (4).

El **aporte lumínico** es el factor más importante a la hora de la regulación de la síntesis de la melatonina. Las luces artificiales en la fase de oscuridad tienen un efecto deletéreo sobre la secreción de melatonina, ya que a medida que aumenta su intensidad incrementa la inhibición sobre su síntesis (5).

De hecho, se ha visto que la administración de luz intensa por la noche durante un periodo de tiempo puede producir una variación en el patrón de secreción de la melatonina, provocando que haya un aumento por el día y una disminución por la noche. Esto induce un estado de alerta durante la noche y un aumento de somnolencia por el día (5).

La glándula pineal también tiene inervación parasimpática. Desde el V par craneal salen fibras nerviosas al ganglio esfenopalatino y ganglio trigeminal que se encargan de modular el efecto de la noradrenalina. Los neurotransmisores parasimpáticos son el VIP y el PHI (3,5).

En cuanto a la modulación hormonal, se ha visto que hay ciertas hormonas como TRH, ACTH, estrógenos, andrógenos, corticoides, calcitonina e incluso la propia melatonina, que tienen una acción directa o indirecta sobre los pinealocitos y sobre el núcleo supraquiasmático (3,5).

Aparte de la regulación neural y hormonal, los niveles de la melatonina van a estar controlados por otros factores independientes, como puede ser las estaciones, el sexo o la edad (5).

### 4.3. MECANISMOS DE ACCIÓN

La melatonina principalmente va a ejercer sus funciones mediante receptores de membrana (*Figura 4*). Se han descrito fundamentalmente dos receptores específicos de membrana: **ML1** y **ML2**, estas son proteínas transmembrana acopladas a proteínas G inhibitoras de la adenilato ciclasa, las podemos encontrar por todo el organismo, incluyendo el sistema nervioso central (4,5).

Se ha visto que estos receptores se modulan según el ciclo circadiano. Por ejemplo, ML1 es más abundante a primera hora de la mañana, mientras que hay mayor cantidad de receptores de ML2 en las últimas horas de luz (3).

Pueden actuar de diferentes formas al activar diferentes tipos de mensajeros celulares (3,4):

- Al interactuar con la proteína cinasa A (PKA) pueden producir una disminución del AMPc o del GMPc (4).
- También puede aumentar la formación de IP3 y diacilglicerol por medio de la proteína cinasa C (PKC) (4).
- Podría inhibir la liberación de prostaglandinas al inhibir a la ciclooxigenasa (3).
- Además, tiene un efecto regulador sobre canales de K, de Ca<sup>++</sup>, pudiendo tener un efecto sobre los canales de calcio voltaje-dependientes y sobre la neurotransmisión de GABA (4).

Asimismo, dada la naturaleza lipofílica de la melatonina, también es capaz de atravesar las membranas celulares y unirse a receptores nucleares de la **superfamilia RXR y ROR** (receptores de retinoides), relacionados con sus efectos inmunoestimuladores (4,5) (Figura 4).

Por último, también puede actuar por medio de un **receptor citosólico** (Figura 4). Al principio se identificó como ML3, pero se ha visto que es la enzima quinona reductasa 2 (QR2) (5).

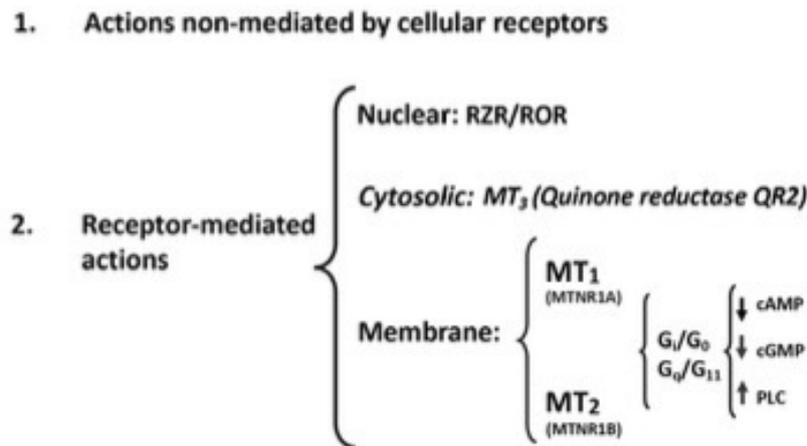


Figura 4. Mecanismos de acción de la melatonina mediados por receptores y por otras acciones (4).

#### 4.4. ACCIONES

La melatonina ejerce diferentes acciones en una gran variedad de procesos biológicos. Muchos de estos efectos son inmediatos, ya que la presencia de esta indolamina va a producir efectos directos sobre diferentes mecanismos (4).

Asimismo, también tiene efectos prospectivos, causados por la ausencia de melatonina en sangre. Los efectos prospectivos pueden ser de 2 tipos (4):

- Proximales. Se producen inmediatamente después del cese de la producción de la melatonina (a primera hora de la mañana).
- Distales. Cuando en el mecanismo de acción de la melatonina intervienen factores de transcripción, por lo tanto, tardan más tiempo en hacer efecto.

En primer lugar, cabe destacar, que la melatonina actúa como **cronobiótico**, debido a la presencia de receptores en todo el organismo, incluyendo el núcleo supraquiasmático (4). De esta manera, hace posible la sincronización de nuestros ritmos circadianos, ya que, al informar de los periodos de luz/oscuridad, hace posible la regulación y el mantenimiento de diferentes variables del organismo, como presión arterial o temperatura (5).

Así, hay una relación clara entre la melatonina y las variaciones de la temperatura. Por la noche, al aumentar la concentración de la melatonina, se reduce la temperatura corporal, debido a la vasodilatación que produce sobre los vasos periféricos (5).

Debido al efecto directo de la melatonina en el núcleo supraquiasmático, estos ritmos se pueden modificar con la administración exógena de melatonina, pudiendo sincronizar el ritmo circadiano en pacientes ciegos (3,5). También, se ha demostrado que puede usarse en los trastornos del sueño-vigilia (como el jetlag) (3).

Por otro lado, un considerable número de trabajos describen los efectos de la melatonina como **regulador del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas**. A nivel del hipotálamo puede disminuir la secreción de GnRh, a nivel de la hipófisis regula la síntesis de prolactina y de las gonadotropinas, y a nivel gonadal, controla la producción de esteroides. En animales prepúberes, la administración de melatonina disminuye el desarrollo mamario (3).

Igualmente, no está del todo claro su efecto sobre la pubertad, pero parece que existe una relación. Cuando hay tumores pineales que cursan con un aumento de la melatonina, aparecen cuadros de retraso de pubertad e hipogonadismo. Mientras que, si hay tumores que cursan con una destrucción de la glándula y que disminuyen la concentración de melatonina, se suele relacionar con cuadros de pubertad precoz (3).

Por otro lado, la melatonina también tiene un **efecto inmunoestimulador** al poder inducir la respuesta humoral y celular. Al mismo tiempo, las citoquinas e interleuquinas producidas por el sistema inmune regulan la síntesis y secreción de la melatonina, es decir, existe un mecanismo de retroalimentación (5).

Actúa como “basurero” de especies reactivas del oxígeno (ROS), en esto se basa su potente **efecto antioxidante**. Aparte de eliminar las ROS, disminuye la producción de radicales libres, incrementa los niveles de otras enzimas anti-oxidantes e inhibe enzimas pro-oxidantes (5,6). El efecto antioxidante puede explicar que la melatonina protege en situaciones de inflamación crónica y frente a la neurodegeneración (5).

Además, la melatonina tiene la capacidad de inhibir la vía de señalización NF-kB, suprimiendo la producción de citoquinas pro-inflamatorias y disminuyendo los leucocitos producidos. Esta acción junto con la eliminación de ROS es la base del **efecto antiinflamatorio** de la melatonina (6)

Un último grupo de acciones de la melatonina son sus acciones oncostáticas (5). Se ha demostrado que esta indolamina tiene un efecto antitumoral en tumores de mama, cuando se administra melatonina a animales a los que se les ha inducido un tumor mamario, se ha visto que actúa inhibiendo la proliferación tumoral (3).

En conclusión, la melatonina actúa por todo el organismo y ejerce un gran número de funciones. En este trabajo me voy a centrar principalmente en analizar la función oncostática y el uso de la melatonina como posible tratamiento en el cáncer.

## 5. MECANISMOS DE LOS EFECTOS ANTITUMORALES DE LA MELATONINA

Las células tumorales adquieren unas características distintivas que las convierten en células malignas. Hanahan y Weinberg fueron los encargados de describirlas en primer lugar y después ampliarlas a las siguientes diez peculiaridades (7):

- 1) Evasión de supresores del crecimiento.
- 2) Evasión de la respuesta inmune.
- 3) Inmortalidad replicativa.
- 4) Promoción de la inflamación.
- 5) Invasión y metástasis.
- 6) Inducción de la angiogénesis.
- 7) Mutación e inestabilidad genética.
- 8) Inhibición de la apoptosis.
- 9) Desregulación energética celular.
- 10) Mantenimiento de la señalización proliferativa.

La melatonina tiene una gran variedad de características que permiten su actuación como agente oncostático. A continuación, describiremos diferentes mecanismos a través de los cuales la melatonina ejerce sus acciones antitumorales. En la *Figura 5* se resumen los diferentes mecanismos a través de los cuales la melatonina ejerce sus acciones antitumorales (8).

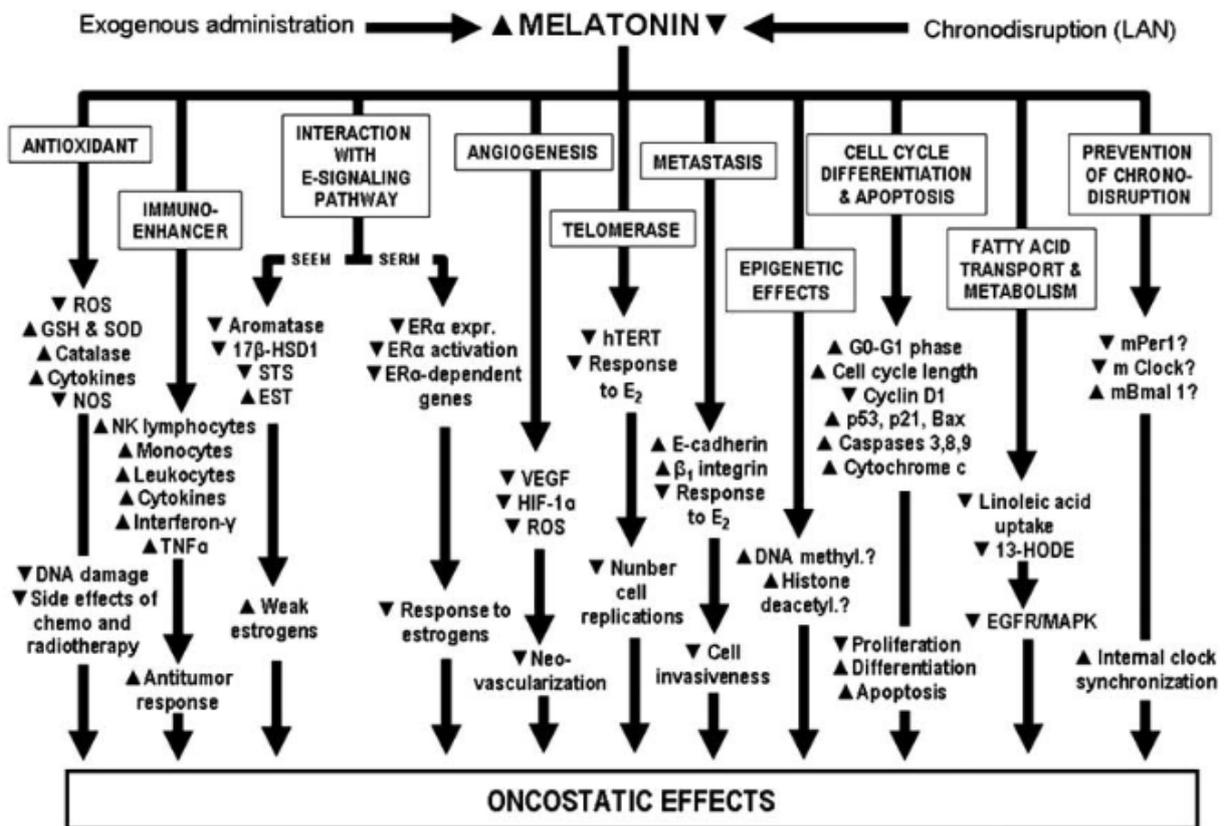


Figura 5. Resumen de los efectos oncostáticos de la melatonina (8).

## 5.1. ACCIONES ANTIESTROGÉNICAS DE LA MELATONINA

Se ha visto que las acciones anticancerígenas de la melatonina tienen sobre todo relevancia sobre los tumores hormono-dependientes, como pueden ser el cáncer de mama, de ovario o de próstata; siendo el adenocarcinoma de mama el más estudiado (9–13)

Algunos autores han relacionado la disminución de la concentración nocturna de melatonina con los factores etiológicos del cáncer de mama. Según ellos, el descenso de los niveles séricos de melatonina puede inducir un hiperestrogenismo y la exposición de la mama durante tiempo a ese nivel alto de estrógenos puede favorecer la génesis y desarrollo del cáncer mamario. Se han llevado a cabo estudios sobre la cronodisrupción en trabajadoras de turnos nocturnos y se ha establecido una relación clara entre la alteración del pico de melatonina nocturno y el aumento de la incidencia de cáncer de mama (11–13)

Se han propuesto tres posibles mecanismos por el cual la melatonina tiene acciones oncostáticas en tumores hormonodependientes sobre la base de acciones de carácter antiestrogénico (8):

### 1) Inhibición del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas.

La melatonina actúa sobre el hipotálamo, la hipófisis y las gónadas reduciendo la síntesis de estrógenos y de prolactina, dos hormonas importantes en el crecimiento mamario tanto normal como tumoral (13).

### 2) Modulador selectivo de los receptores de estrógenos (SERM)

La melatonina funciona como un **modulador selectivo de los receptores de estrógenos (SERM)** reduciendo la expresión del receptor de estrógeno (ER) alfa e impidiendo la unión del complejo estrógeno-receptor estrogénico al elemento de respuesta estrogénico en el ADN (14–16).

Los estrógenos aumentan el AMPc, favoreciendo la activación del complejo estrógeno-ER y la transcripción de proteínas. La melatonina al reducir el AMPc inhibe la transcripción de proteínas mediada por el receptor estrogénico (17).

Las células cancerígenas que sobreexpresan los receptores MT1 tienen un mayor efecto antiestrogénico, ya que por medio de estos receptores se disminuye el AMPc (18–20).

Otra vía de actuación de la melatonina puede ser actuando como un antagonista de la calmodulina. La calmodulina se une al complejo estrógeno-ER alfa favoreciendo su unión al ADN. Cuando la melatonina está presente se inducen cambios conformacionales sobre el complejo ER-calmodulina, impidiendo la unión del estrógeno. De esta manera se obstaculiza la transcripción dependiente de los estrógenos (21).

### 3) Modulador selectivo de enzimas estrogénicas (SEEM)

Por otro lado, se ha visto que la melatonina también actúa como un **modulador selectivo de las enzimas estrogénicas (SEEM)** inhibiendo enzimas relacionadas con la síntesis de estrógenos, como la P450 aromatasas, estrógeno sulfatasa y 17 $\beta$ -HSD. También activa enzimas encargadas de formar metabolitos inactivos, como la enzima estrógeno sulfotransferasa (22–24).

En conclusión, la melatonina es una hormona que actúa como SERM y como SEEM, inhibiendo principalmente al complejo estrógeno-ER. En esto radica su gran utilidad en tumores estrógeno-dependientes como el cáncer de mama, ya que inhibe el efecto del estrógeno de forma específica a diferentes niveles. De esta manera se cubren diferentes puntos de las vías activadas por los estrógenos (8).

## 5.2. MODULACIÓN DEL CICLO CELULAR: PROLIFERACIÓN, DIFERENCIACIÓN Y APOPTOSIS

El ciclo celular es el proceso que da lugar a la duplicación de las células. La melatonina modula el ciclo celular de las células tumorales mamarias humanas retrasando la progresión de las células de las fases G0 / G1 a la fase S, aumentando el número de células en la fase G0 / G1 y reduciendo el número de células en la fase S, ampliando la duración del ciclo celular, probablemente actuando también sobre la fase G0 / G1 aumentando su duración y actuando sobre las células que se encuentran en la fase S reduciendo la síntesis de ADN (8).

El desarrollo de los tumores va a depender del equilibrio entre la proliferación y la muerte celular, de manera que las células cancerígenas lo modulan favoreciendo la proliferación e inhibiendo la apoptosis. La melatonina va a intervenir en este desequilibrio inclinando la balanza hacia el otro lado: disminuye la proliferación celular y favorece la muerte celular (8).

Las células cancerígenas tienen la habilidad de inhibir los genes supresores de tumores como p53, PTEN o APC. La mutación del p53 se ha visto en más del 50% de todos los tumores. La melatonina fosforila p53, volviéndolo activo y suprimiendo la proliferación celular (25).

La sobreexpresión de p53 y p21 inducidas por la melatonina son los principales causantes de que se alargue la fase G1, impidiendo que se sintetice más ADN. También parece que la disminución de la ciclina D1 provocada por la melatonina interviene en su acción antiproliferativa (26,27).

Al alargar el ciclo celular se favorece la diferenciación celular. Los tumores más diferenciados suelen tener un mejor pronóstico ya que son menos agresivos (28).

La evasión de la apoptosis es posible en las células cancerígenas debido al aumento de la expresión de proteínas anti-apoptosis (como Bcl2) y a la disminución de las proteínas pro-apoptóticas (como Bax) (29).

En ciertos cánceres, como el pancreático u ovárico, la melatonina es capaz de estimular la apoptosis de las células cancerígenas mediante la regulación de Bcl2/Bax, produciendo una disminución de Bcl2 y un aumento de Bax (29).

Sin embargo, la acción pro-apoptótica de la melatonina no está del todo clara, ya que en algunos casos se ha visto que solo actúa sobre células cancerígenas, protegiendo las células normales; mientras que en otros estudios se ha observado que la melatonina no favorece la apoptosis o que incluso tiene efecto anti-apoptótico (30).

### **5.3. INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA TELOMERASA**

La telomerasa se activa por medio de la expresión de hTERT, esto implica una división celular ilimitada (8). Esta enzima está activada por las células tumorales y es capaz de estabilizar los cromosomas para que se dividan indefinidamente (31).

Aparte de aumentar la telomerasa, se sobreactivan otras vías de señalización dependientes de CDKs, Akt/PI3K o mTOR, de esta manera las células tumorales se vuelven inmortales, permitiendo que se desarrolle y crezca el cáncer (32).

En el caso del cáncer de mama, los estrógenos son capaces de activar la telomerasa ya que hTERT tiene un sitio de unión imperfecto en el promotor y permite la unión del estrógeno. Hay otras sustancias como los xenoestrógenos o metales que también pueden inducir su activación (30,33).

La melatonina produce una inhibición dosis dependiente de la expresión de hTERT, por lo tanto, al aumentar la concentración de melatonina se ha visto tanto en estudios *in vivo* como en *in vitro* que se reduce la actividad de la telomerasa (31).

### **5.4. EFECTOS ANTIOXIDANTES**

El estrés oxidativo se define como el desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno y su inactivación por antioxidantes. Se ha visto que este daño puede participar en la iniciación, el desarrollo y la invasión de la carcinogénesis (8)

El efecto antioxidativo de la melatonina incluye (34,35):

- Inducción de la eliminación de las especies reactivas. Así, la melatonina actúa como “basurero” sobre los radicales libres (34,35).
- La acción sobre diferentes enzimas favorece la síntesis de enzimas antioxidativas y disminuyendo la actividad de las pro-oxidativas (34,35).

Aparte de actuar de forma directa sobre los ROS, la melatonina tiene efectos indirectos sobre la inflamación y el ADN dañado (8)

Entre los diferentes carcinógenos cabe mencionar que los estrógenos no solo estimulan la proliferación celular de ADN dañado, sino que muchos de sus metabolitos producen un gran estrés oxidativo al inducir la formación de aniones superóxidos y radicales de hidroxilo (8)

La inflamación crónica está muy relacionada con el desarrollo del cáncer. La inflamación origina productos, como especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, que favorecen el daño del ADN y el desarrollo de cáncer (36). El complejo proteico NF-kB controla muchas funciones, pero destaca que es proinflamatorio y que controla la respuesta inmune. En algunos tipos de cáncer estas proteínas pueden encontrarse en mayor cantidad y está relacionado con una mayor agresividad (37). La melatonina es capaz de inhibir vías de señalización como el complejo NF-kB, reduciendo así su efecto inflamatorio y reduciendo la agresividad de las células tumorales (36–38).

Tratamientos antitumorales convencionales como la quimioterapia y la radioterapia se caracterizan por producir toxicidad celular causada por la formación de radicales libres y especies reactivas de oxígeno. La melatonina al tener una gran actividad antioxidante puede mejorar la calidad de vida y reducir la toxicidad (39).

## **5.5. ANTIANGIOGÉNESIS**

La angiogénesis es una característica imprescindible para el crecimiento y desarrollo del tumor, por medio del aumento del riego sanguíneo las células tumorales consiguen aumentar el aporte de oxígeno y nutrientes, además establecen vías para su posterior diseminación (40,41). Las células tumorales son capaces de sintetizar factores pro-angiogénicos (VEGF) y de impedir la síntesis de los inhibidores de la angiogénesis (36). La formación de nuevos vasos sanguíneos está directamente relacionada con la hipoxia. En estas condiciones se produce el factor inducible por hipoxia (HIF-1 $\alpha$ ), el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento transformante alfa (TGF-alfa) y otros genes inducibles por hipoxia (42)

Uno de los factores más importantes en la angiogénesis es el VEGF, ya que activa la formación de vasos al aumentar la permeabilidad microvascular del endotelio (42). El HIF-1 $\alpha$  se introduce en la célula cuando hay bajos niveles de oxígeno para aumentar la expresión de ciertos genes, como el VEGF, así que la expresión de HIF-1 $\alpha$  está relacionado con una mayor agresividad tumoral (43).

La melatonina es antiangiogénica ya que disminuye la transcripción de HIF-1 $\alpha$ , haciendo que se reduzca la secreción de VEGF (40,41,44,45), en parte gracias a su acción antioxidante, ya que los ROS favorecen la expresión de HIF-1 $\alpha$ (45) .

Por otro lado, la melatonina también produce la inhibición sobre ciertas vías de señalización (p38 o ERK/Rac1) encargadas de la formación de nuevos vasos. De esta forma se inhibe la migración endotelial, la invasión endotelial y la formación de vasos (36,46).

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

El Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (International Agency for Research on Cancer) considera la cronodisrupción como un probable agente cancerígeno en los humanos (47).

El reloj endógeno (núcleo supraquiasmático) controla la división y la proliferación celulares regulando la expresión de p53 y otros genes como c-Myc, Per1 y Per2 (48). La exposición a luz artificial durante la noche modifica la secreción de melatonina y está ligado al desarrollo de tumores, como el cáncer de mama (49,50). Per1 y Per2 se relacionan con vías de señalización asociadas a ADN dañado. Cuando estos se sobreexpresan, se controla el crecimiento y la apoptosis celular; en cambio, en situaciones en las que se pierde la expresión de estos genes (como el cáncer), se favorece el crecimiento tumoral y se inhibe la apoptosis (51).

La melatonina al actuar sobre el núcleo supraquiasmático podría favorecer la sobreexpresión de estos genes, como Per1. De esta manera, se modifica el microambiente tumoral, regulando el crecimiento y la apoptosis celular (52).

En estudios con ratones a los que se les inyectaron células tumorales y fueron sometidos a cambios constantes del ciclo luz-oscuridad, se vieron que estas alteraciones del ritmo circadiano producían una disrupción del sueño y una supresión de la melatonina nocturna. Todo esto produjo una mayor velocidad de crecimiento tumoral (52).

Como conclusión, en gran cantidad de estudios se ha relacionado la cronodisrupción con una disminución en la concentración de melatonina nocturna y una mayor probabilidad de desarrollar tumores (52).

## **5.7. INHIBICIÓN DE LA METÁSTASIS**

La melatonina juega un factor muy importante como antimetastásico, se ha visto que tiene funciones desde el inicio de los cambios tumorales hasta su progresión e invasión a otros órganos (53,54). El cáncer para invadir un tejido secundario necesita perder el contacto entre células, extravasarse, transportarse por el organismo y ocupar otro tejido (36)

Como ya hemos comentado, la inestabilidad genética es uno de los primeros pasos que da el cáncer en su desarrollo. Gran parte de este daño es causado por ROS producidos por agentes cancerígenos como la radiación iónica, tóxicos o contaminantes (36).

La melatonina gracias a su acción antioxidante actúa de forma directa e indirecta sobre los ROS, antes de que puedan dañar el ADN y disminuyendo la proliferación tumoral de las células ya dañadas (34,35,48). Asimismo, la inestabilidad genética puede estar promovida por otros factores, como los elementos nucleares intercalados largos (LINE). Aunque se encuentre de forma natural en el genoma humano, muchas veces se puede observar sobreexpresado en el cáncer. Esto provoca mutaciones y roturas de la cadena

doble de ADN. La melatonina al interactuar con su receptor MT1 disminuye la regulación de los ARNm de LINE, reduciendo la proliferación tumoral (55).

En cuanto a la interacción intercelular y con la matriz, en el cáncer vemos una disminución de adhesión celular, permitiendo que estas células tengan una mayor flexibilidad y puedan viajar por el organismo (56,57).

La melatonina también tiene efectos reguladores sobre la interacción intercelular y la interacción con la matriz, la remodelación de la matriz extracelular, el citoesqueleto y la angiogénesis. Estas características implican cambios en el microambiente tumoral, disminuyendo su capacidad de invasión a otros tejidos (58).

La melatonina actúa a nivel de las uniones estrechas y adherentes celulares (56,57):

- 1) Para perder el contacto celular las células tumorales disminuyen la expresión de la E-cadherina. Estudios sobre el mecanismo de acción de la melatonina han descrito que esta es capaz de aumentar la expresión de la E-cadherina mediante la regulación de la vía de señalización NF- $\kappa$ B y así disminuir la invasividad de las células tumorales (36,56,57).
- 2) Por otro lado, para la migración es necesario que se disminuya la ocludina, una proteína transmembrana encargada de la adhesión de la célula. La melatonina aumenta la expresión de la ocludina, impidiendo que las células tumorales puedan viajar a otros tejidos (36,56,57).
- 3) Por último, ejerce un efecto inhibitorio sobre proteínas claves como la proteína-quinasa asociada a Rho o la integrina. La melatonina al inhibir estas cinasas hace que se reorganicen los microtúbulos y los microfilamentos celulares, disminuyendo la migración e invasión (59). También regula la expresión de la  $\beta_1$ -integrina, encargada de unir la célula tumoral a la matriz extracelular (36).

## 5.8. EFECTOS INMUNOESTIMULANTES

Las células tumorales pueden desarrollar diferentes mecanismos para evadir la respuesta inmune, como activar las células T reguladoras, suprimir la respuesta inmune o evitar la presentación de antígenos (36). La melatonina no solo se produce en la glándula pineal, como ya hemos comentado, se puede producir en otros tejidos, como los órganos linfoides (timo o médula ósea), los cuales intervienen en la regulación de la respuesta inmunitaria (60). En estudios *in vitro* e *in vivo* se ha visto que la melatonina tiene una función inmunomoduladora, regulando la inmunidad celular-humoral y la inmunidad innata. Por un lado, parece ser que esta indolamina actúa como inmunoestimulador y es capaz de favorecer la producción de células natural killer, monocitos, leucocitos, citocinas o interleucinas. Asimismo, también actúa como inmunoreguladora sobre la respuesta Th1 y Th2. La melatonina produce un cambio en esta balanza, potenciando la respuesta Th1 y favoreciendo la producción de interleucinas (IL-2, IL-6, IL-12) y de interferón gamma (60,61).

## **5.9. FACTORES EPIGENÉTICOS**

Las alteraciones epigenéticas están consideradas como un importante mecanismo involucrado en la tumorigénesis. Podemos encontrar alteraciones en la expresión genética en la mayoría de los cánceres en humanos. El epigenoma es menos estable y más sensible a los tóxicos ambientales, por ello encontramos alteraciones epigenéticas con mayor frecuencia. Suelen ser alteraciones reversibles con tratamiento y limitadas a una zona. La inactivación de un gen supresor de tumores puede ser debida a una mutación genética o a una alteración de la transcripción (traslocación o inhibición). El silenciamiento génico y los cambios en la estructura de la cromatina producen la inhibición de la transcripción de un gen, esto cobra importancia cuando se afectan genes que controlan la proliferación celular o la apoptosis. También se pueden modificar oncogenes por medio de alteraciones en la acetilación de histonas o en la metilación del ADN. La regulación epigenética de la expresión de genes involucra, básicamente dos tipos de mecanismos moleculares: modificaciones de histonas y metilaciones del ADN (62).

La melatonina ha demostrado en algunos estudios que tiene efectos directos sobre la epigenética. Parece que podía estar involucrada en la remodelación de la cromatina, en la regulación de las histonas y en la metilación del ADN (8).

## **5.10. TRANSPORTE Y METABOLISMO DE ÁCIDOS GRASOS**

Las grasas de la dieta tienen un papel importante en el desarrollo, crecimiento y metabolismo de los tumores. Mientras que la ingesta de ácidos grasos de la familia omega-3 han demostrado tener un efecto protector sobre el desarrollo tumoral, el aumento en la dieta de la familia omega-6 está relacionado con un mayor riesgo de desarrollar cáncer. Dentro de la familia omega-6 destaca el ácido linoleico, uno de los ácidos grasos más abundantes en la dieta occidental. El ácido linoleico entra a la célula por medio de una proteína-cinasa dependiente de AMPc. Cuando es captado por la célula tumoral, este se oxida a ácido 13-hidroxióctadecadienoico (13-HODE), capaz de activar la vía EGFR, favoreciendo la mitogénesis celular (63,64).

Cuando la concentración de melatonina es elevada, se disminuye el nivel de AMPc, por lo tanto, menos ácido linoleico entra en la célula. Como no hay ácido linoleico no se produce 13-HODE y no se activa la vía EGFR/MAPK, por lo tanto, se inhibe el desarrollo tumoral (63,64).

## **6. MELATONINA COMO ADYUVANTE A LA QUIMIOTERAPIA EN EL CÁNCER**

El cáncer es un crecimiento anormal donde las células desarrollan unas características específicas que las predisponen a un crecimiento incontrolado y a la evasión de la respuesta inmune (1).

En el 2020 hubo alrededor de 19 millones de casos nuevos de cáncer y sobre 10 millones de muertes en el mundo debido a ello. Se espera que para 2040 haya 28 millones de casos nuevos de cáncer, casi el doble que en 2020. Sobre todo, esto es debido al aumento de la esperanza de vida y de la prevalencia de factores de riesgo conocidos (2,65).

El cáncer de pulmón es el más diagnosticado y el que más muertes causa en ambos sexos, pero tampoco podemos olvidar que el cáncer de mama es el más incidente y el que mayor mortalidad tiene entre las mujeres. Además de estos dos, cabe mencionar que el cáncer de próstata sigue siendo el segundo cáncer más diagnosticado en hombres, aunque baja en la lista de mortalidad al 5º puesto. El cáncer de colon también es muy prevalente y bastante mortal tanto entre hombres como entre mujeres (2,66).

La quimioterapia suele utilizarse en cánceres más avanzados y agresivos, en algunos casos puede llegar a ser curativa. Sin embargo, principalmente hay dos obstáculos que lo impiden (67–69):

- a. Efectos secundarios sobre las células sanas.
- b. Las células cancerígenas desarrollan resistencia a la quimioterapia.

La resistencia a la quimioterapia es un gran problema, ya que aproximadamente la mitad de los cánceres son resistentes o adquieren resistencia a lo largo del tratamiento (70).

El cáncer es una enfermedad muy grave y mortal que en los próximos años va a seguir aumentando. Por ello, se han empezado a investigar compuestos que puedan tener efectos anticancerígenos y sean sensibilizantes a los tratamientos convencionales, como es el caso de la melatonina (1,69,71,72):

- Tiene funciones antitumorales muy prometedoras y sin efectos secundarios relevantes.
- Tiene citotoxicidad selectiva sobre células cancerígenas.
- Protege a las células sanas de la citotoxicidad de la quimioterapia.
- Mejora la calidad de vida del paciente y la supervivencia.

En este apartado vamos a hacer una revisión de diferentes estudios *in vitro*, *in vivo* y ensayos clínicos donde se ha usado la melatonina como adyuvante de la quimioterapia para intentar entender su eficacia como tratamiento complementario.

## 6.1. MELATONINA Y QUIMIOTERAPIA EN ESTUDIOS *IN VITRO*

El cáncer de mama está aumentando en incidencia en los últimos años, algunos autores lo han considerado incluso un problema de sanidad pública. Por esto, se están buscando alternativas distintas al tratamiento tradicional (73).

Se ha visto que el desarrollo del cáncer está muy relacionado con la exposición prolongada a hormonas, sobre todo a los estrógenos. Como ya hemos comentado anteriormente, la melatonina tiene una acción reguladora en el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas, disminuyendo los niveles de GnRH y otras hormonas como la LH (1).

Al analizar los niveles de melatonina en pacientes con cáncer de mama con receptor de estrógenos positivo (ER+), se vio una relación inversa entre el pico nocturno de melatonina y los niveles de estrógenos. Esto podría indicar que la melatonina podría tener alguna función en cánceres hormono-dependientes, como el cáncer de mama. Además, también se ha hallado un mayor número de receptores MT1 en cánceres con receptores de estrógenos, de progesterona y HER2 positivo (1).

En el 2012 Uguz *et al* describieron el efecto sinérgico de la melatonina sobre la citotoxicidad y la apoptosis cuando se usaba como adyuvante de 5-FU, cisplatino y doxorrubicina en la línea celular tumoral pancreática AR42J de ratones. Las células se incubaron con melatonina, 5-FU, cisplatino y doxorrubicina como tratamiento exclusivo para compararlo con el tratamiento combinado de melatonina con los diferentes agentes quimioterápicos. Después de 48 horas de incubación se pudo ver una disminución en la viabilidad celular de cada tratamiento de forma individual. Sin embargo, el tratamiento combinado con melatonina durante 12 y 24 horas producía una disminución más significativa de la viabilidad tumoral, es decir, la melatonina favorece la citotoxicidad de la quimioterapia. Asimismo, los resultados también muestran que los tratamientos exclusivos aumentan el porcentaje de células apoptóticas al compararlo con el control pero el tratamiento combinado con melatonina produce un aumento estadísticamente significativo de células apoptóticas (74).

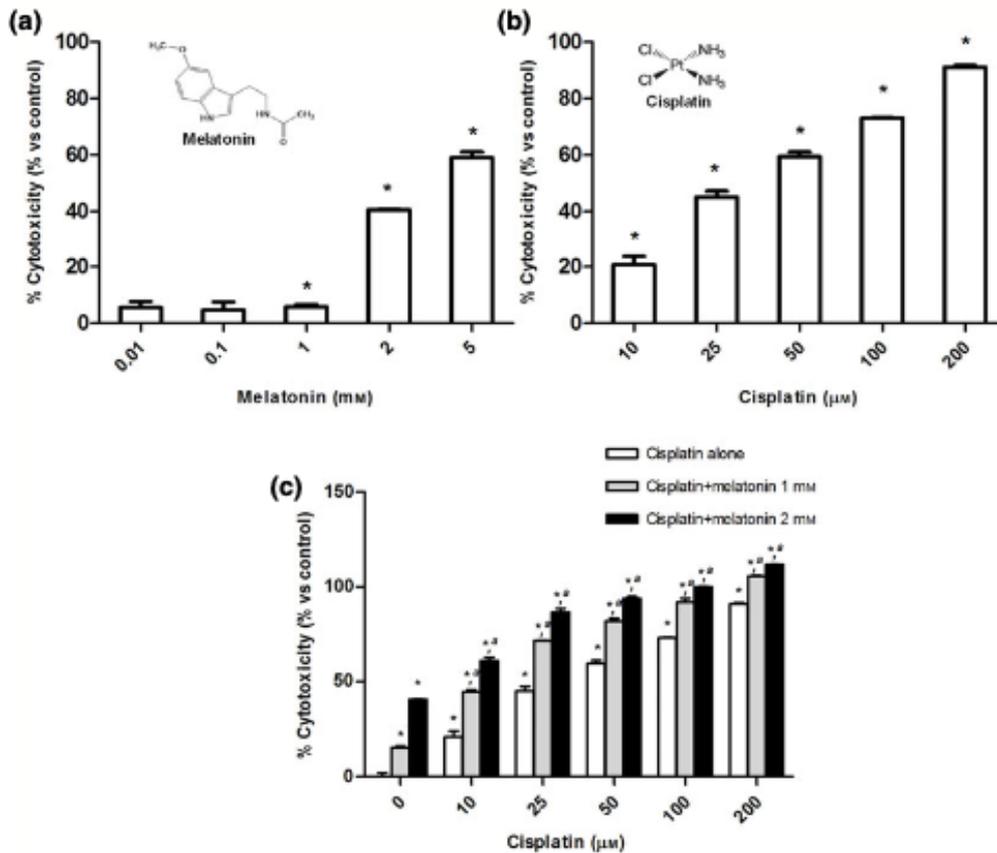
Estos resultados demuestran que la melatonina es capaz de **potenciar el efecto terapéutico de los agentes quimioterápicos**, al aumentar la citotoxicidad y favorecer la apoptosis de las células tumorales (74).

Plaimee *et al* (2015) estudiaron la eficacia de la melatonina cuando es usada como adyuvante del cisplatino para el tratamiento de cáncer pulmonar de células no pequeñas (75).

El cáncer de pulmón es la principal causa de muerte por cáncer en ambos sexos (6). Este se puede clasificar en cáncer de células pequeñas y de células no pequeñas. La gran mayoría (80%) es de células no pequeñas que se presentan en un estado avanzado (76).

Para medir el efecto de la melatonina y el cisplatino evaluaron la citotoxicidad, la apoptosis y el ciclo celular en células de la línea SK-LU1. Se trataron solo con melatonina o con cisplatino o se combinaron ambos. La melatonina como tratamiento exclusivo tiene mayor efecto citotóxico (IC50= 5 mM) que el grupo sin tratamiento, es más, a medida que se aumenta la concentración de melatonina, el efecto citotóxico es mayor.

Asimismo, el cisplatino mostró un efecto citotóxico aún mayor (IC<sub>50</sub>= 33,9 μM) que el grupo control. Al combinar la melatonina con el cisplatino el efecto citotóxico tiene un aumento significativo respecto al grupo tratado solo con cisplatino, además, este efecto es dosis-dependiente, a mayor dosis, mayor efecto. Esto se puede observar en la *Figura 6* (75).



*Figura 6. Efecto citotóxico de la melatonina (a) y cisplatino (b) como tratamientos exclusivos. Efecto sobre la citotoxicidad de la melatonina y cisplatino como tratamiento combinado (c) (75).*

Por medio del análisis de las anexinas se pudo evaluar la inducción de la apoptosis. Se observó un aumento dosis-dependiente en las células tratadas con melatonina y cisplatino comparado con las células tratadas solo con cisplatino. Por lo tanto, la combinación de ambos aumenta la muerte celular (75).

Además, por medio de la medición del contenido de ADN se pudo observar que el tratamiento de melatonina y cisplatino producía un aumento de células en la fase S, favoreciendo la detención del crecimiento (75).

En conclusión, este trabajo demostró que la melatonina es capaz de **aumentar la citotoxicidad del cisplatino**, favoreciendo la **inducción de la apoptosis** e **impidiendo la progresión del ciclo celular** (75).

Fic *et al* (2007) evaluaron el efecto de la melatonina y doxiciclina en las siguientes líneas celulares: queratinocitos, cáncer pulmonar de células no pequeñas A-549 y células HEP-2 tumorales laríngeas. En los queratinocitos, en el grupo tratado solo con melatonina se pudo ver una disminución de la proliferación a medida que se aumenta la concentración de esta ( $p < 0,05$ ). En el grupo tratado exclusivamente con doxiciclina también se pudo ver una disminución celular significativa con dosis de 0,1  $\mu\text{g/ml}$  y 1  $\mu\text{g/ml}$ . Sin embargo, con dosis de 0,01  $\mu\text{g/ml}$  no se vio una variación significativa. Solo cuando 0,1  $\mu\text{g/ml}$  de doxiciclina se combinaba con 1 mM de melatonina se podía ver una disminución significativa celular. Además, cuando se combinaba melatonina con 1  $\mu\text{g/ml}$  de doxiciclina el número de células era mayor comparado con el tratamiento exclusivo con doxiciclina (Figura 7) (77).

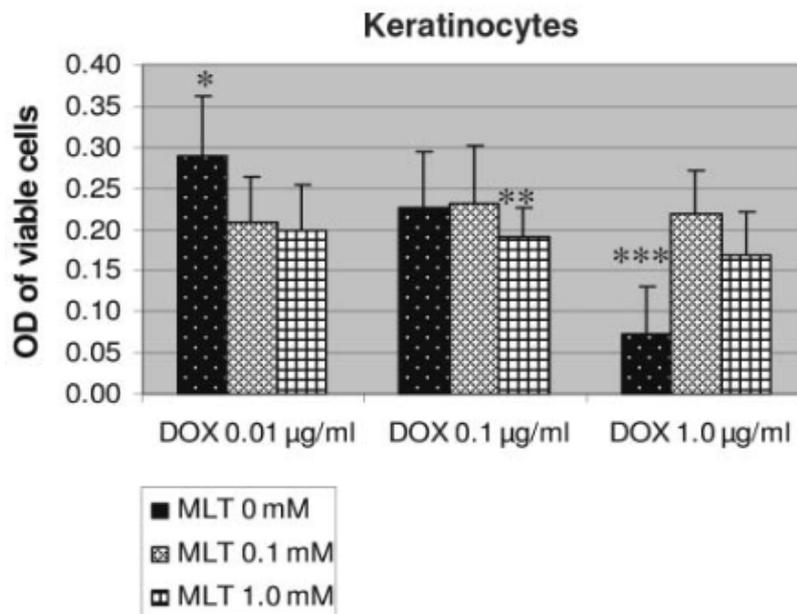


Figura 7. Efecto de la melatonina y doxiciclina en el crecimiento celular de queratinocitos. \* $p < 0,05$  comparado con melatonina. \*\* $p < 0,05$  comparado con 0 mM y 0,01 mM melatonina. \*\*\* $p < 0,05$  comparado con melatonina (77).

En la línea celular HEP-2, el uso exclusivo de doxiciclina a 0,01  $\mu\text{g/ml}$  no produjo alteraciones significativas. A medida que se aumentaba la concentración de doxiciclina se pudo ver un claro aumento de muerte celular. Además, si a cualquier dosis de doxiciclina se añade melatonina, hay un aumento significativo de la apoptosis (Figura 8) (77).

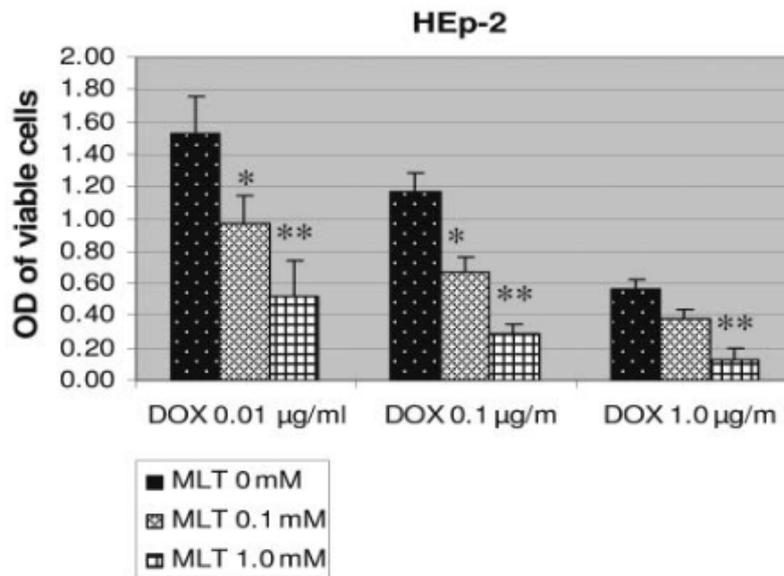


Figura 8. Efectos de la melatonina y doxiciclina en el crecimiento celular de HEp-2. \* $p < 0,05$  comparado con grupo control y \*\* $p < 0,005$  comparado con grupo control y con 0,1mM de melatonina (77).

En la línea celular A-549, el uso exclusivo de melatonina o de doxiciclina a 0,01 µg/ml no produjo alteraciones significativas. A medida que se aumentaba la concentración de doxiciclina se pudo ver un claro aumento de la muerte celular. Además, si a cualquier dosis de doxiciclina se añade melatonina, se puede ver un aumento significativo de la apoptosis (Figura 9) (77).

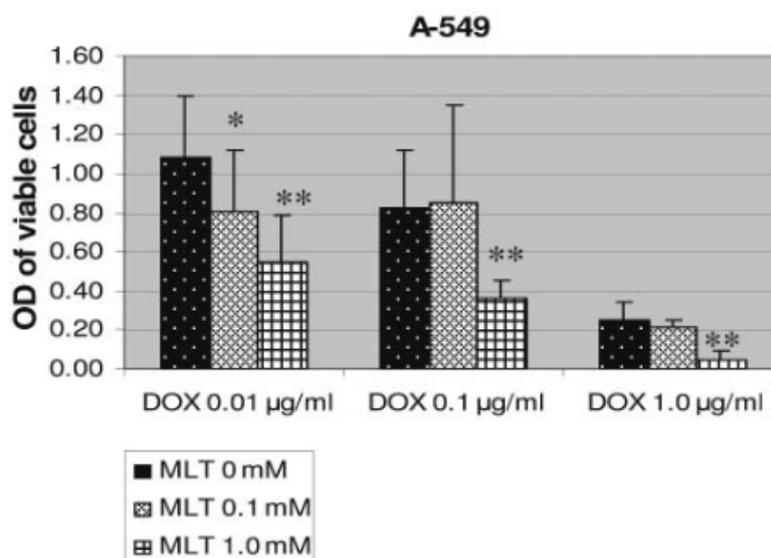


Figura 9. Efectos de la melatonina y doxiciclina en el crecimiento celular de A-549. \* $p < 0,05$  comparado con grupo control y \*\* $p < 0,05$  comparado con 0mM y 0,1mM de melatonina (77).

En conclusión, la melatonina incrementa la apoptosis en células tumorales y, sin embargo, inhibe la apoptosis en células normales (queratinocitos). Esto puede implicar que la melatonina tenga acciones apoptóticas o antiapoptóticas dependiendo del tipo

celular y la concentración de esta hormona. La doxiciclina inhibe el crecimiento celular, tanto en células sanas como tumorales. Sin embargo, cuando se combinaba la doxiciclina con la melatonina en los **queratinocitos**, se pudo observar un **aumento de crecimiento celular**, mientras que en las **líneas tumorales** la combinación de melatonina y quimioterapia **disminuye la proliferación celular** (77).

González-González *et al* (2020) describieron el efecto de la melatonina como adyuvante del docetaxel y de la vinorelbina en células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC) (78).

Docetaxel es un taxano, mientras que la vinorelbina es un alcaloide. Ambos son agentes antimicrotubulares, por lo que producen la muerte celular al inhibir los microtúbulos celulares necesarios para la división celular (79,80). Se diseñaron varios modelos para investigar el efecto de la quimioterapia sola, de la melatonina sola y del tratamiento de melatonina con quimioterapia (78). En primer lugar, se examinó cómo afectaba esta hormona a la proliferación celular. Se vio que la quimioterapia por sí misma era capaz de reducir la proliferación, al igual que la melatonina (con dosis de 1 mM). Como se puede ver en la *Figura 10*, a medida que se aumenta la concentración del agente quimioterápico se disminuye la proliferación celular. Sobre todo, se ve una diferencia significativa en los casos que se combina la melatonina con el docetaxel o la vinorelbina (81,82).

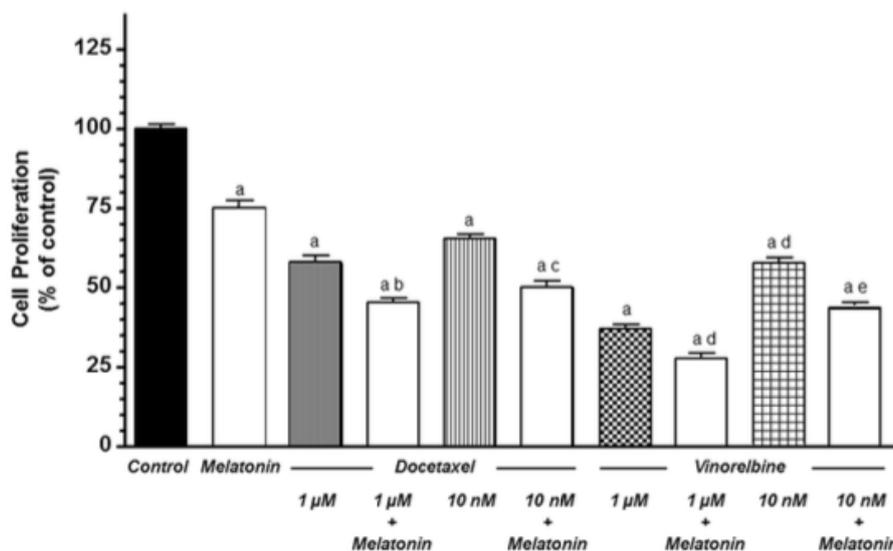


Figura 10. Efectos de la melatonina sobre la proliferación celular al combinarse con docetaxel y vinorelbina (78).

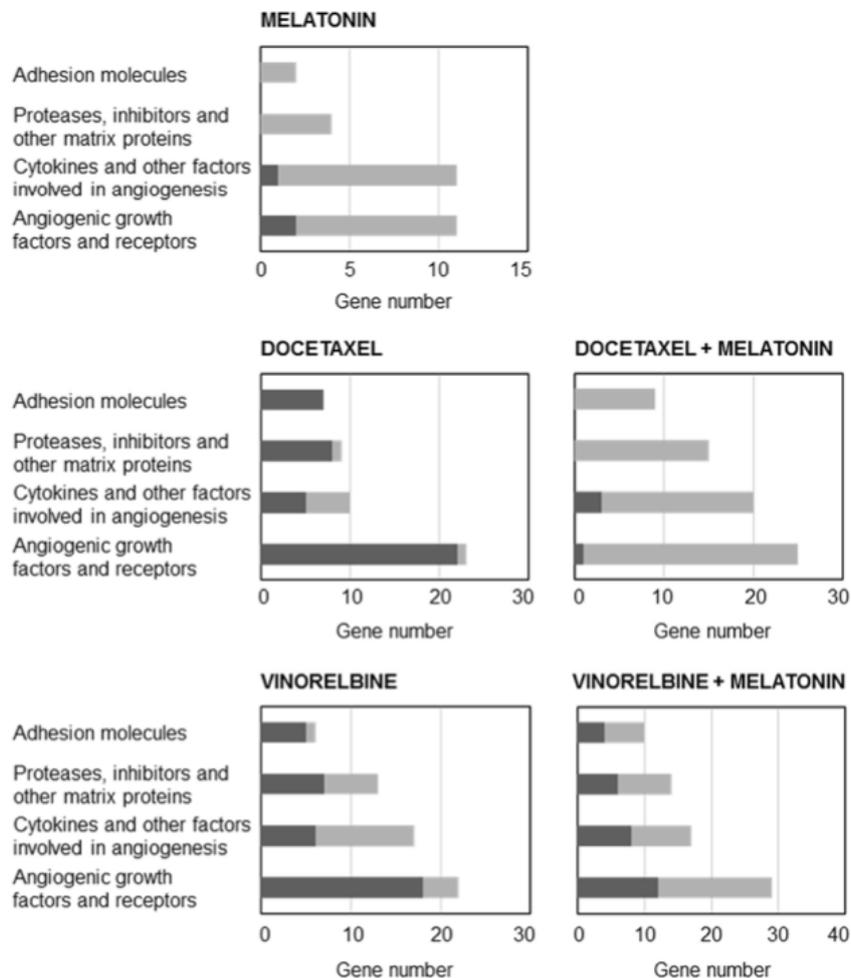
Asimismo, en este estudio se pudo observar que cuando estos agentes antimicrotubulares se combinaban con la melatonina, disminuía la invasividad ya que se reduce la migración celular (78).

El estradiol acelera la angiogénesis, proliferación y migración tumoral, por medio de la activación del receptor de estrógenos alfa (83). La vinorelbina aumenta la expresión de enzimas pro-estrogénicas, como la aromatasa y la sulfatasa esteroidea, mientras que la melatonina tiene una acción contraria, neutraliza e inhibe estas enzimas. Aparte de esto,

tanto la vinorelbina como el docetaxel pueden reducir la transcripción de la enzima proestrógena 17 $\beta$ -HSD1, al igual que la melatonina (84).

Tanto el docetaxel como la vinorelbina aumentan la expresión de genes que favorecen la angiogénesis, como VEGF. En este estudio se vio que la melatonina es capaz de neutralizar e inhibir la sobreexpresión de estos genes proangiogénicos (78). Además de reducir la expresión de VEGF en esta línea celular (MCF-7), se ha visto en otros estudios que es capaz de reducir su expresión en otros tumores como de ovario (63) o de próstata (85).

En la *Figura 11* se puede ver de forma esquematizada la regulación genética que ejerce la melatonina sobre la adhesión, invasividad y angiogénesis en tratamiento exclusivo y cuando se combina con quimioterapia (78).



*Figura 11. Expresión de genes en tratamiento exclusivo con melatonina, docetaxel y vinorelbina y en combinación de docetaxel+melatonina y vinorelbina+melatonina. Las columnas grises son genes con una menor expresión, las columnas negras son genes sobreexpresados (78).*

En el estudio se demuestra que la melatonina es capaz de **potenciar el efecto de la quimioterapia**, en este caso, **inhibiendo la angiogénesis**, y **neutralizar la toxicidad y el efecto proangiogénico** del docetaxel y la vinorelbina (78).

González *et al* (2021) describen como las acciones antiangiogénicas de la melatonina pueden tener una función muy prometedora para quimiosensibilizar tumores resistentes. La asociación de melatonina con quimioterápicos tiene un efecto sinérgico inhibiendo la angiogénesis. Sin embargo, algunos agentes quimioterápicos pueden producir efectos pro-angiogénicos que pueden ser revertidos con la melatonina (86).

Una de las vías de señalización que están asociadas al desarrollo de cáncer es la activación de Akt. Aunque la melatonina combinada con la quimioterapia no siempre puede inactivar la Akt (72), parece que tiene efectos sinérgicos con agentes como vincristina o ciclofosfamida (87). La melatonina también favorece la función de 5-FU ya que ambos inhiben la proliferación, migración e invasividad tumoral. Es más, se ha visto en estudios *in vitro* e *in vivo*, que en cánceres de esófago la combinación de la melatonina con el 5-FU también puede inactivar Akt (88).

La melatonina depende en gran parte de la expresión de receptores en tumores para poder llevar a cabo todas estas acciones. Mientras que en células de cáncer de mama estrógeno dependientes (MCF-7) la melatonina favorece la función antiproliferativa de la doxorubicina y, además, inhibe la migración y disminuye los efectos indeseables de la quimioterapia, en el cáncer triple negativo no se vieron estos efectos (89). En resumen, la melatonina como tratamiento complementario ejerce **acciones antitumorales**, como inhibir la proliferación, invasividad y angiogénesis tumoral, y también **mejora la eficacia de los tratamientos convencionales**, al actuar de forma sinérgica y al disminuir sus efectos secundarios e indeseados (86).

En el cáncer de mama son muy importantes las interacciones que se establecen entre el tumor y el microambiente creado. La reacción desmoplásica influye en el desarrollo del cáncer de mama al inhibir la diferenciación de adipocitos y fibroblastos y al aumentar la expresión de aromatasa y de citocinas anti-adipogénesis. Todo esto favorece que el tumor se rodee de un ambiente cargado en estrógenos, lo que beneficia el crecimiento tumoral (89,90). González-González *et al* en el 2019 investigaron los efectos de la quimioterapia (docetaxel y vinorelbina) y radioterapia sobre el microambiente tumoral y cómo la melatonina lo modulaba en cultivos celulares de preadipocitos y de cáncer de mama humano (91).

El docetaxel y la vinorelbina, a parte de disminuir la proliferación tumoral, incrementaban la cantidad de triacilglicéridos intracelular de adipocitos, es decir, son capaces de favorecer su diferenciación. Además, aumentaban la expresión de genes y enzimas que participan en la adipogénesis. Cuando se combinaba con la melatonina, se pudo ver que ésta potenciaba la adipogénesis al favorecer el acúmulo de triglicéridos intracelulares (*Figura 12*) y al aumentar la expresión de genes involucrados en la adipogénesis. Otro factor muy importante es la actividad y la expresión de la aromatasa en los preadipocitos; se ha visto que estos agentes quimioterapéuticos disminuyen su actividad (*Figura 13*) al reducir la expresión del promotor II. Asimismo, la melatonina también inhibe el promotor II y potencia el efecto ejercido por la quimioterapia. Además, el docetaxel inhibe la expresión de citocinas que inhiben la diferenciación de los adipocitos y que aumentan la actividad de la aromatasa, como IL-11, IL-6 o TNF $\alpha$ . La vinorelbina también tiene esa capacidad de reducir la actividad de alguna de estas

citocinas, como IL-11 y TNF $\alpha$ . Por último, la melatonina fue capaz de estimular el efecto del docetaxel y de la vinorelbina, favoreciendo la diferenciación de los adipocitos (91).

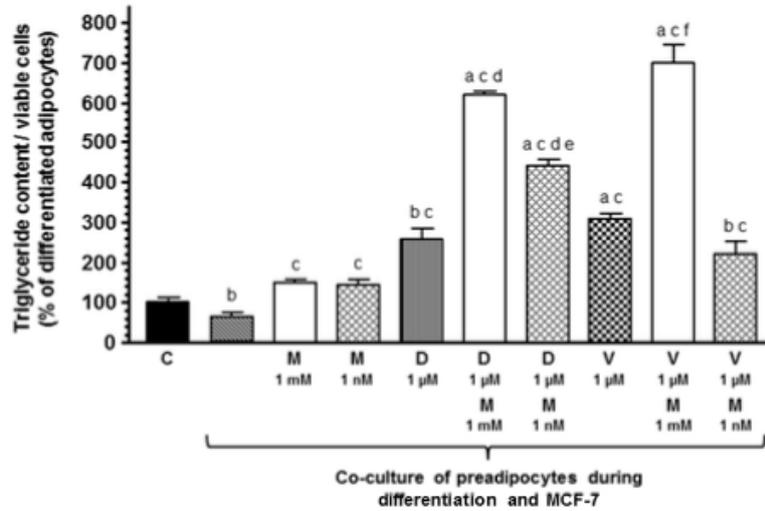


Figura 12. Efectos del docetaxel, vinorelbina, melatonina y sus combinaciones sobre el contenido intracitoplasmático de triglicéridos en fibroblastos en presencia de cáncer de mama (MCF-7). C: adipocitos, M: melatonina, D: docetaxel, V: vinorelbina (91).

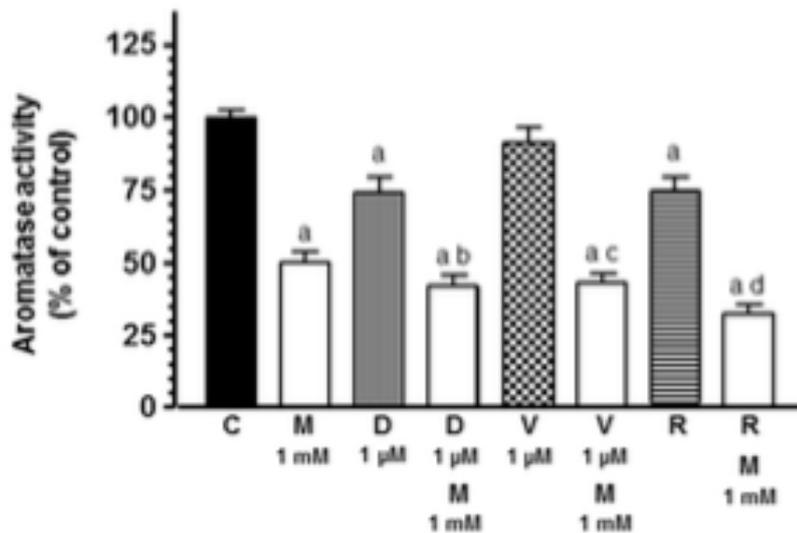


Figura 13. Efectos del docetaxel, vinorelbina, radiación, melatonina y la combinación de estos sobre la actividad de la aromatasa. C: control, M: melatonina, D: docetaxel, V: vinorelbina, R: radiación (91).

La radiación inhibe la proliferación celular, además de reducir la concentración de triglicéridos intracelulares, impidiendo la diferenciación de los adipocitos y reduciendo la expresión de genes implicados en este proceso. En cambio, cuando se administra con melatonina, esta es capaz de revertir este efecto deletéreo (91).

En conclusión, la quimioterapia tiene un papel fundamental sobre el tumor y el microambiente tumoral. La melatonina **potencia los efectos de la quimioterapia**,

favoreciendo la diferenciación e inhibiendo la expresión de la aromatasa. Además, también potencia la inhibición de la proliferación celular producido por la **radioterapia** y **contrarresta los efectos perjudiciales** de esta (91).

## 6.2. MELATONINA Y QUIMIOTERAPIA EN ESTUDIOS *IN VIVO*

El cáncer de esófago es la sexta causa de muerte en el mundo, siendo muy frecuente en Asia. El tipo histológico más frecuente, que se da en más del 80% de los casos, es el carcinoma de células escamosas. Aunque el diagnóstico precoz ha supuesto una gran mejoría pronóstica, la supervivencia a 5 años del diagnóstico sigue siendo del 15-25%, en parte debido a la resistencia adquirida a la quimioterapia (92,93). El principal agente quimioterápico utilizado es el 5-FU, aunque solo el 30% de los pacientes se benefician de él, principalmente por los efectos secundarios y la quimiorresistencia (94). Parece que esta resistencia está asociada con receptores anormales de la tirosin-kinasa, de manera que inhibidores de NF- $\kappa$ B y Akt pueden tener un efecto contrario y favorecer la sensibilización de la quimioterapia (44).

Dado que la melatonina es capaz de inhibir la vía de Akt y NF- $\kappa$ B, podría actuar como sensibilizador del 5-FU en los tumores que han desarrollado resistencias. Por ello, Lu *et al* (2016) estudiaron el efecto de la melatonina sobre el cáncer de esófago *in vitro* e *in vivo*. *In vitro*, con células humanas de carcinoma de células escamosas y células sanas. *In vivo*, inyectando células de la línea Eca109 de carcinoma de células escamosas en ratones y estudiando los efectos del tratamiento con melatonina, 5-FU y ambos (88).

*In vitro*, la melatonina redujo la proliferación y la viabilidad de las células tumorales en más del 70%, en cambio, no inhibió la proliferación de las células normales. El efecto fue dependiente de la concentración y del tiempo. Asimismo, fue capaz de inducir la apoptosis celular por medio de las caspasas. Este efecto fue dosis-dependiente, a mayor dosis de melatonina mayor porcentaje de apoptosis. En las células tumorales se pudo ver una sobreexpresión de la vía de señalización Akt. La melatonina regula esta vía reduciendo la expresión de estos genes. La asociación de melatonina con 5-FU provocó un mayor efecto citotóxico sobre las células tumorales comparado con la quimioterapia o la melatonina como tratamientos exclusivos. Se vio una gran reducción de la proliferación tumoral y un aumento de la apoptosis de las células tumorales, no hubo afectación de las células normales. Además, se observó que la melatonina neutraliza los efectos indeseados del 5-FU (sobreexpresa Akt) y favorece la sensibilización de la quimioterapia (88).

*In vivo*, la melatonina inhibió la proliferación tumoral y provocó una disminución del volumen tumoral al compararlo con el grupo control. Asimismo, en el grupo con el tratamiento combinado, se pudo ver una disminución significativa en la proliferación tumoral, sin producir pérdida de peso u otros efectos secundarios. Además, se observó que la melatonina es capaz de disminuir la expresión de la vía Akt que estaba sobreexpresada por el 5-FU. Este estudio demuestra que la melatonina tiene una **citotoxicidad selectiva** hacia las células tumorales. Además, esta hormona **suprime el**

**crecimiento tumoral y neutraliza la quimiorresistencia adquirida por la vía Akt** tanto en el estudio *in vitro* como en el estudio *in vivo* (88).

En el 2001 Granzotto *et al* estudiaron los efectos antitumorales de la melatonina con doxorubicina y la acción de la melatonina sobre la citotoxicidad en líneas celulares específicas y en ratones a los que se les indujo linfoma (95).

En primer lugar, se pudo observar una inhibición del crecimiento celular estadísticamente significativo en el estudio *in vitro* cuando se usaba la melatonina sobre tumores mamarios, de colon y leucemias, aunque no se pudo establecer una relación entre la inhibición y la dosis de melatonina necesaria para ello. Cuando se investigó si la melatonina tenía alguna influencia sobre el efecto citotóxico de la doxorubicina *in vitro*, se vio que, aunque se administrara a diferentes dosis no había un aumento significativo de la citotoxicidad en ninguna línea tumoral estudiada. En el experimento *in vivo*, se pudieron ver resultados parecidos, en los ratones tratados con melatonina y doxorubicina no hubo un incremento de la tasa de supervivencia cuando se comparaban con los tratados únicamente con doxorubicina. Sin embargo, se observó una disminución de la toxicidad producida por la doxorubicina en los ratones tratados con melatonina como adyuvante. Sobre todo, se vieron efectos beneficiosos sobre la función hematopoyética de la médula ósea (95).

Por último, al estudiar el efecto de la melatonina sobre la resistencia adquirida a la doxorubicina se vio una quimiosensibilización parcial en la línea celular P388 de leucemia. Esta reversión dosis-dependiente (con 200-1000 pg/mL de melatonina) se pudo observar tanto en el estudio *in vitro* como en el estudio *in vivo*. Parece que la melatonina mejora la concentración de la doxorubicina dentro de la célula tumoral al favorecer su entrada o al disminuir su salida (95).

Como conclusión, establecieron que la melatonina **no tiene un efecto claro sobre la efectividad** de la doxorubicina. Exceptuando el hecho de que esta fue capaz de **sensibilizar parcialmente** la línea celular P388 de leucemia *in vitro* e *in vivo* (95).

Uno de los principales problemas de la quimioterapia es la citotoxicidad que produce en las células sanas. La ciclofosfamida, un agente alquilante, produce una gran urotoxicidad debido a la excreción renal de metabolitos tóxicos. Este es un gran problema ya que es un efecto secundario limitante que se soluciona interrumpiendo el tratamiento o con la adición de agentes protectores. En el 2010 Tripathi *et al* estudiaron cómo la melatonina puede proteger el daño inducido por ciclofosfamida en vejigas de ratones. Cuando se comparaba el grupo control con el que usaba la ciclofosfamida como tratamiento exclusivo se veía un aumento significativo de marcadores de estrés oxidativo y una reducción del glutatión reducido. Sin embargo, cuando se administraba el tratamiento combinado con la melatonina se observó que los marcadores de estrés oxidativo y el glutatión reducido volvían casi a la normalidad, sugiriendo que la melatonina puede contrarrestar el estrés oxidativo producido por la ciclofosfamida (*Figura 14*) (96).

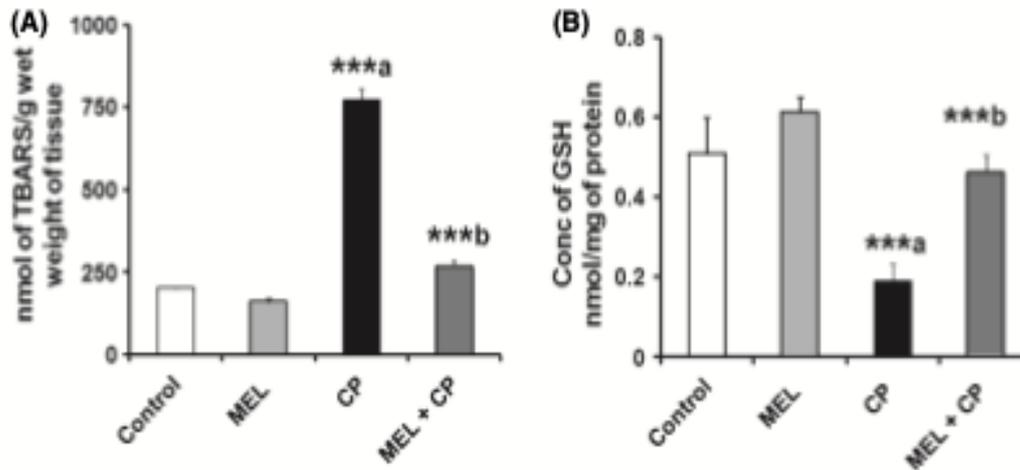


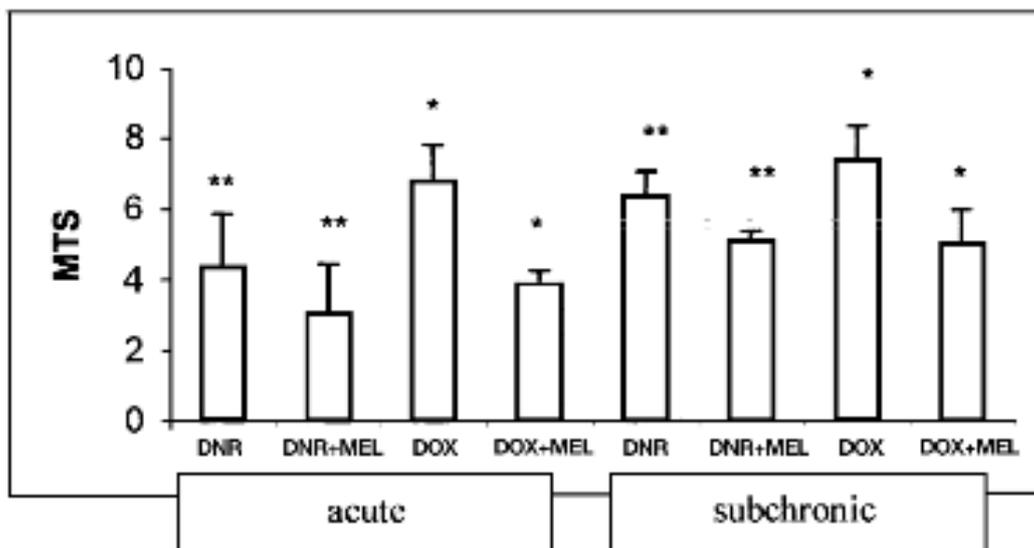
Figura 14. Efecto de la melatonina, de la ciclofosfamida y de la combinación de ambos sobre los marcadores de estrés oxidativo (A) y sobre el glutatión reducido (B) (96).

También se vio que la ciclofosfamida producía un aumento en el ADN dañado y fragmentado, mientras que la combinación con melatonina reducía significativamente estos parámetros. Al observar las vejigas de los ratones con el microscopio electrónico se pudieron observar cambios histológicos (como ulceración de la mucosa y submucosa, edema, hemorragia e inflamación) en aquellos animales que habían recibido tratamiento solo con ciclofosfamida. En cambio, en los ratones que recibieron el tratamiento combinado de ciclofosfamida con melatonina no se observaron grandes cambios, lo que podría indicar que la melatonina actúa como protector sobre la toxicidad producida por la quimioterapia. Los niveles de Nrf2 son muy importantes, porque se han relacionado con la protección celular frente al estrés oxidativo. Principalmente, la ciclofosfamida aumenta los niveles de NF- $\kappa$ B y reduce los niveles de Nrf2, favoreciendo la inflamación e inhibiendo la expresión de elementos antioxidantes. Cuando se añade la melatonina se disminuye los niveles NF- $\kappa$ B y se aumentan los niveles de Nrf2, atenuando la urotoxicidad producida (96).

En conclusión, la ciclofosfamida induce urotoxicidad al aumentar el estrés oxidativo en la vejiga, esto conlleva que haya un aumento de ADN dañado, apoptosis y cambios histológicos. En cambio, la combinación con melatonina, gracias a su efecto antioxidante directo e indirecto, **disminuye el estrés oxidativo y protege al urotelio** de la citotoxicidad de la ciclofosfamida (96).

La doxorubicina y la daunorubicina son antraciclinas muy utilizadas como agentes quimioterápicos que también se ven limitadas por su toxicidad. Básicamente producen una gran cantidad de radicales libres de oxígeno que afectan a la médula ósea, al corazón y al riñón. Esto implica que haya restricciones en su uso y que se limite su dosis y eficacia. Sobre todo destaca la cardiotoxicidad, conlleva alteraciones agudas del miocardio que se pueden ver en el electrocardiograma y lesiones estructurales cuando el tratamiento se prolonga en el tiempo. Por ello, Dziegiel *et al* en el 2002 decidieron hacer este estudio para determinar si la melatonina podría usarse como adyuvante y proteger al organismo del estrés oxidativo producido por la quimioterapia (97).

El experimento se realizó en ratas a las cuales se les inyectaban los agentes quimioterapéuticos como tratamiento exclusivo o combinado con la melatonina. Además, se examinó si había diferencias entre la intoxicación aguda y subcrónica dependiendo del momento en el que se diseccionaban. Se hicieron estudios histológicos mediante microscopio electrónico para observar cambios estructurales y también se midieron marcadores bioquímicos de daño cardíaco. Cuando los ratones fueron tratados con antraciclinas se pudo ver un claro daño histológico y bioquímico. Aunque las lesiones estructurales aparecían indistintamente en la intoxicación aguda o en la subcrónica, sí que se pudo ver una diferencia en la severidad. Las lesiones más críticas se observaron en ratones con intoxicación subcrónica. De forma parecida se pueden ver los cambios en los marcadores bioquímicos, incrementan de forma similar y con la misma severidad en la intoxicación aguda y subcrónica. La administración de melatonina como adyuvante demostró que tenía un efecto cardioprotectivo, ya que los marcadores histológicos y bioquímicos de daño cardíaco se redujeron de forma significativa tanto en la intoxicación aguda como en la subcrónica (*Figura 15*) (97).



*Figura 15. Severidad del daño cardíaco, evaluado con microscopio, producido por la intoxicación aguda o subcrónica de doxorubicina, daunorrubicina y la combinación de estas con la melatonina. DNR: daunorrubicina, MEL: melatonina, DOX: doxorubicina (97).*

En conclusión, la melatonina es un gran **agente protector frente a la cardiotoxicidad** producida por la quimioterapia gracias a su función antioxidativa. De forma directa e indirecta favorece la eliminación de los radicales libres, disminuyendo la citotoxicidad producida por la doxorubicina y la daunorrubicina (97).

Xiang *et al* en el 2015 utilizaron ratones para examinar el efecto cronobiótico de la melatonina sobre el cáncer de mama. Partiendo de la hipótesis de que la exposición a luz durante el periodo de oscuridad produce una disrupción del ciclo circadiano y disminuye la producción de melatonina, examinaron qué ocurría cuando se administraba esta hormona como suplemento. Para ello indujeron cáncer de mama en

ratones y los expusieron a luz tenue durante la noche, además, hicieron dos grupos, uno recibió solo doxiciclina y el otro doxiciclina con melatonina. Los niveles de melatonina fueron casi indetectables en el grupo control y el grupo tratado solo con doxiciclina, sin embargo, en el grupo tratado con doxiciclina y melatonina se vio un aumento considerable de los niveles séricos de esta. Se pudo observar que la exposición a luz sin suplemento disminuía la latencia de aparición del cáncer y favorecía el desarrollo tumoral, induciendo un aumento del metabolismo y crecimiento. Además, se vio que se desarrollaban tumores completamente resistentes a la doxiciclina (98).

En cambio, cuando se combinaba el tratamiento con melatonina se observó una disminución del metabolismo tumoral y un retraso en el crecimiento del cáncer, además de una disminución significativa del tamaño tumoral (*Figura 16*). Se vio una limitación de la captación de ácido linoleico con una menor formación de HODE y un menor consumo de glucosa y oxígeno por la célula tumoral. Además, este tratamiento combinado aumentó la quimiosensibilidad a la doxiciclina y redujo la expresión y fosforilación de diferentes vías de señalización como HER, ERK o transportadores de ABC, factores relacionados con la resistencia intrínseca y adquirida a la doxiciclina. Asimismo, se vio una reducción de la cardiotoxicidad, en parte gracias a la acción antioxidativa de la melatonina (98).

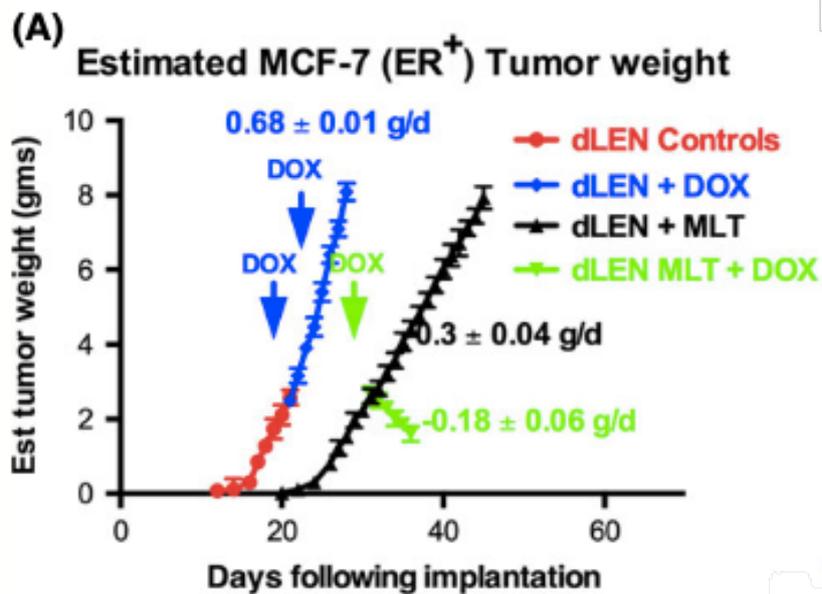


Figura 16. Estimación del peso tumoral en ratones expuestos a luz tenue durante la noche (dLEN) tratados con doxiciclina, melatonina o la combinación de ambos (98).

La incorporación del suplemento nocturno de melatonina, en ratones donde había desaparecido la producción de esta, favoreció la **regresión tumoral**, **disminuyó el metabolismo** del tumor, **retrasó el inicio clínico** del cáncer y restableció la **sensibilidad hacia la doxiciclina** (98).

### 6.3. MELATONINA Y QUIMIOTERAPIA EN ENSAYOS CLÍNICOS

Uno de los primeros ensayos clínicos donde se emplea la melatonina como adyuvante de la quimioterapia fue el que hicieron Lissoni *et al* en 1999 (99).

En este estudio se cogieron 250 pacientes con metástasis en diferentes tumores sólidos: cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de mama, cáncer del tracto gastrointestinal y cáncer de cabeza y cuello. Entre los criterios de selección de los pacientes se encontraban los siguientes: mal pronóstico, no metástasis cerebrales o una esperanza de vida mayor de 6 meses. Se establecieron dos grupos al azar, uno tratado solo con quimioterapia y otro tratado con quimioterapia y melatonina. En el cáncer de pulmón se usó cisplatino más etopósido o gemcitabina (según tratamientos previos), en el cáncer de mama se utilizó doxorubicina o mitoxantrona o paclitaxel, en el cáncer del tracto gastrointestinal se usó 5-FU con ácido fólico y en los pacientes con cáncer de cabeza y cuello se utilizó cisplatino con 5-FU. Todos los pacientes recibían el tratamiento al mismo tiempo (99).

En cuanto a la melatonina, se dio una dosis de 20 mg/día todos los días por la noche vía oral. Se comenzó el tratamiento 7 días antes de la quimioterapia y finalizó cuando había progresión de la enfermedad. Para evaluar la respuesta tumoral, se realizaron pruebas de imagen antes de iniciar el estudio y cada 2 meses. Se estableció que la respuesta completa era la regresión completa al menos durante 1 mes y la respuesta parcial una disminución mayor del 50% durante 1 mes. También se definió enfermedad estable cuando no había un aumento o descenso mayor del 25% y enfermedad progresiva cuando se producía un aumento mayor del 25% (99).

Los únicos pacientes que consiguieron una remisión completa fueron el grupo tratado con melatonina (6/124 frente 0/126). Respecto a la remisión parcial, el grupo con melatonina tuvo un 29% (36/124) frente a un 15% en el grupo solo tratado con quimioterapia (19/126). La regresión tumoral fue mayor cuando se utilizó melatonina, ya que se produjo una disminución de la proliferación tumoral en 42/124 pacientes frente a 19/126 del grupo tratado solo con quimioterapia. También cabe recalcar que en los pacientes tratados con mitoxantrona y melatonina los resultados no fueron estadísticamente significativos (99).

El tiempo medio de progresión tumoral en el grupo tratado solo con quimioterapia fueron 4 meses (entre 3-6 meses), mientras que los pacientes que fueron tratados con quimioterapia y melatonina fueron 9 meses (entre 4-14 meses). En general, la supervivencia a 1 año fue estadísticamente mayor en los pacientes tratados con melatonina como adyuvante ( $p < 0,05$ ), como se puede observar en la *Figura 17* (99).

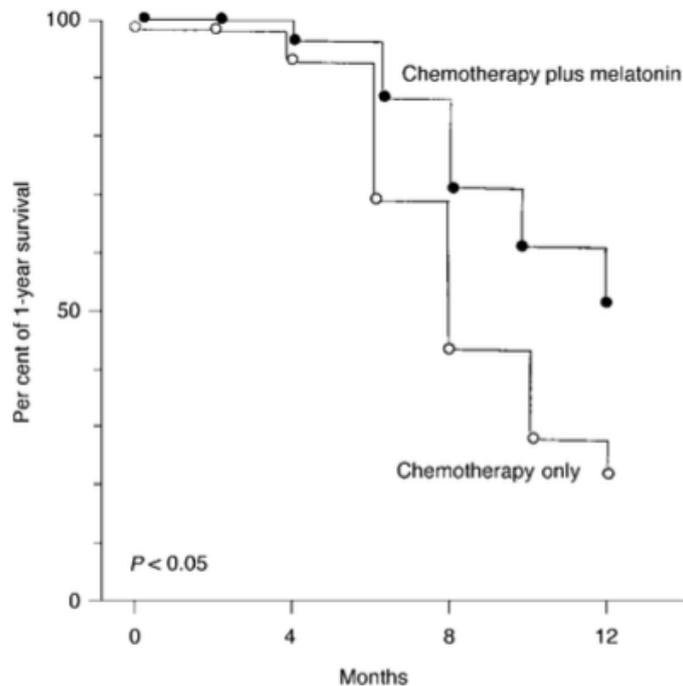


Figura 17. Curvas de supervivencia a 1 año en pacientes con tumores metastásicos tratados con quimioterapia sola y quimioterapia con melatonina (99).

Además, no hubo efectos secundarios causados por la melatonina. Es más, la toxicidad producida por quimioterapia estaba reducida en el grupo tratado con melatonina, se vio una reducción significativa de mielosupresión ( $p < 0,001$ ), de trombocitopenia ( $p < 0,05$ ), neurotoxicidad ( $p < 0,05$ ), cardiotoxicidad ( $p < 0,05$ ), estomatitis ( $p < 0,05$ ) y astenia ( $p < 0,001$ ). La melatonina tuvo un **efecto sinérgico con la quimioterapia y redujo la toxicidad de ésta**. Además, **aumentó la media de supervivencia a 1 año y de la regresión tumoral**. Así que se puede deducir que la adyuvancia con melatonina es una gran opción terapéutica en pacientes con un cáncer avanzado y mal pronóstico (99).

Años más tarde Lissoni *et al* (2003) estudiaron la eficacia a 5 años de la melatonina como adyuvante de la quimioterapia en pacientes con cáncer pulmonar de células no pequeñas (100). En este estudio formaron parte 100 pacientes con cáncer de pulmón de célula no pequeña con metástasis y que no habían recibido previamente quimioterapia para la enfermedad avanzada. De forma aleatoria se hicieron dos grupos, uno recibió solo quimioterapia mientras que el otro fue tratado con quimioterapia y melatonina. Se dieron cuatro ciclos de quimioterapia (cisplatino y etopósido) durante tres días en intervalos de 21 días. Los pacientes que recibieron melatonina lo tomaban diariamente por la noche, empezaron 7 días antes del primer ciclo de quimioterapia y continuaron con ella el resto del tratamiento e incluso después de terminar con los ciclos de cisplatino y etopósido .

En los pacientes tratados únicamente con quimioterapia no hubo ninguna remisión completa, mientras que en el grupo que fue tratado con melatonina dos personas consiguieron la remisión (4%) (Tabla 1). Nueve personas tratadas únicamente con quimioterapia consiguieron la remisión parcial (18%) frente a 15 personas que tomaron

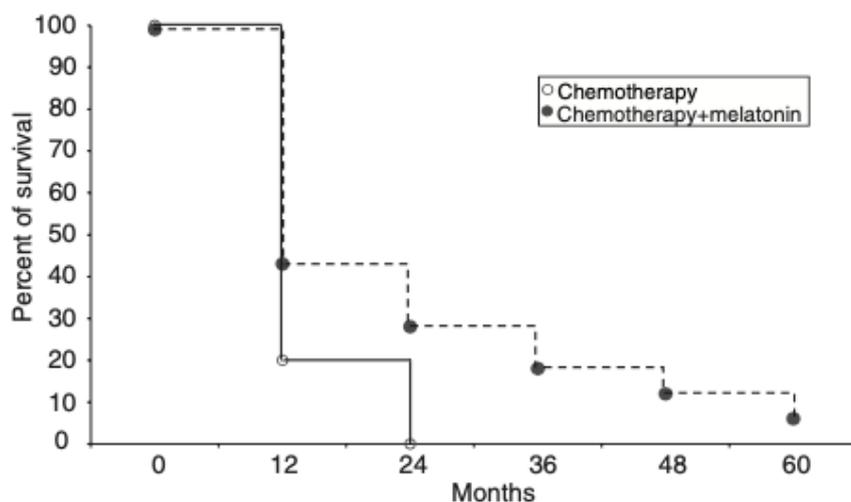
melatonina (31%). La diferencia más significativa con una  $p < 0,05$  se vio en la regresión tumoral, 17 personas tratadas con melatonina (35%) comparado con 9 personas tratadas únicamente con quimioterapia (18%). Además, 22 pacientes tratados solo con quimioterapia consiguieron una enfermedad estable (43%), mientras que la adyuvancia de la melatonina consiguió que 26 pacientes se mantuvieran estables (53%). La progresión de la enfermedad se vio en 20 pacientes tratados solamente con la quimioterapia (39%); por otro lado, en el grupo tratado con melatonina solo progresó en 6 personas (12%) (*Tabla 1*) (100).

*Tabla 1. Respuesta clínica en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas tratados con quimioterapia como tratamiento exclusivo y con melatonina como adyuvante de la quimioterapia (100).*

Patients	n	Clinical response				
		CR	PR	CR+PR (%)	SD	PD
Chemotherapy	51	0	9	9 (18%)	22	20
Chemotherapy and melatonin	49	2	15	17 (35%)*	26	6**

CR, complete response; PR, partial response; SD, stable disease; PD, progressive disease.  
 \* $P < 0.05$  versus chemotherapy alone; \*\* $P < 0.01$  versus chemotherapy alone.

Respecto a la curva de supervivencia a 5 años (*Figura 18*), los tratados con melatonina tuvieron una mayor supervivencia con una diferencia significativa. Asimismo, se puede observar que en el grupo de solo quimioterapia no sobrevive ningún paciente más allá de los dos años, en contraste con el grupo donde se usó la melatonina como adyuvante, donde tres personas (6%) sobrevivieron más de 5 años (100).



*Figura 18. Curvas de supervivencia en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas tratado con quimioterapia y con tratamiento combinado de quimioterapia y melatonina (100).*

Por último, se pudo relacionar una mejor tolerancia del tratamiento en el grupo en el que se asoció la melatonina. En concreto, hubo diferencias significativas en la neurotoxicidad ( $p < 0,01$ ), trombocitopenia ( $p < 0,01$ ), pérdida de peso mayor del 10% ( $p < 0,001$ ) y astenia (0,005) (100).

Como conclusión de este trabajo, la melatonina utilizada como adyuvante **favorece la regresión tumoral, mejora la calidad de vida y aumenta la supervivencia** en general. Aunque solo el 6% de los pacientes tratados con melatonina sobrevivieron más de 5 años tiene un gran impacto en la población ya que este cáncer es muy frecuente y muy mortal (100).

En el 2022 Maleki Dana *et al* describieron el efecto de la melatonina como adyuvante de la doxiciclina. Estos autores estudiaron el efecto sinérgico sobre las acciones antitumorales y cómo la melatonina reduce los efectos citotóxicos de la doxiciclina (101).

La melatonina puede aumentar la eficacia de la doxiciclina gracias a su acción antiapoptótica y a su capacidad de inhibir la invasividad (101). En este estudio se observó que la doxiciclina usada junto a la melatonina era capaz de favorecer las acciones antitumorales en el cáncer de mama, mostrando que la inducción de la apoptosis es llevada a cabo al reducir la AMP proteín-cinasa (102). La combinación de la melatonina y de la doxiciclina favorecen también la apoptosis en el tumor de hígado al aumentar la expresión de Bax y reducir Bcl-2 (103). También se ha visto que tiene efecto en el cáncer de colon, donde la combinación de la melatonina con la doxiciclina producía un aumento de la apoptosis (42%), comparado con 29% y 34% del tratamiento exclusivo con melatonina o doxiciclina (104). Así mismo, en un estudio *in vivo* donde se trataron tumores pancreáticos en ratas con melatonina y agente quimioterápicos (doxiciclina, cisplatino y 5-FU), se vio un aumento del efecto citotóxico y un aumento de la apoptosis celular (74).

A parte de estos efectos antitumorales, la melatonina es capaz de reducir la citotoxicidad de la doxiciclina (101).

En primer lugar, tiene un efecto sobre la cardiotoxicidad producida por la doxiciclina. Mientras que la quimioterapia exclusiva como tratamiento causa cambios en el ECG y alteraciones histológicas en el tejido cardiaco, cuando se combina con melatonina se puede ver una mejoría en el ECG y una inhibición en los cambios estructurales (105). La melatonina es cardioprotectora al inhibir la inflamación, la muerte celular y el estrés oxidativo en las células sanas (101).

Además, la doxiciclina tiene una gran nefrotoxicidad. Parece que la melatonina puede disminuir este daño a nivel renal gracias a su efecto antioxidativo (101). En ratas tratadas con doxiciclina que sufrían un daño glomerular importante, la adición de melatonina a la doxiciclina revirtió significativamente este efecto (106).

Por último, la acción antioxidante de la melatonina permite también disminuir el daño causado por estrés oxidativo de la doxiciclina en otros órganos (101). La melatonina previene el daño en órganos como el plasma, el córtex cerebral o el hipotálamo de ratas gracias a su administración antes y durante el tratamiento con doxiciclina (107).

En conclusión, los agentes quimioterápicos como la doxiciclina son muy utilizados para el tratamiento del cáncer pese a sus efectos secundarios y su efecto negativo en la calidad de vida de los pacientes. Gracias a la acción antitumoral de la melatonina se puede **augmentar la eficacia** de la quimioterapia y **mejorar la calidad de vida** al reducir los efectos tóxicos relacionados con la quimioterapia (101).

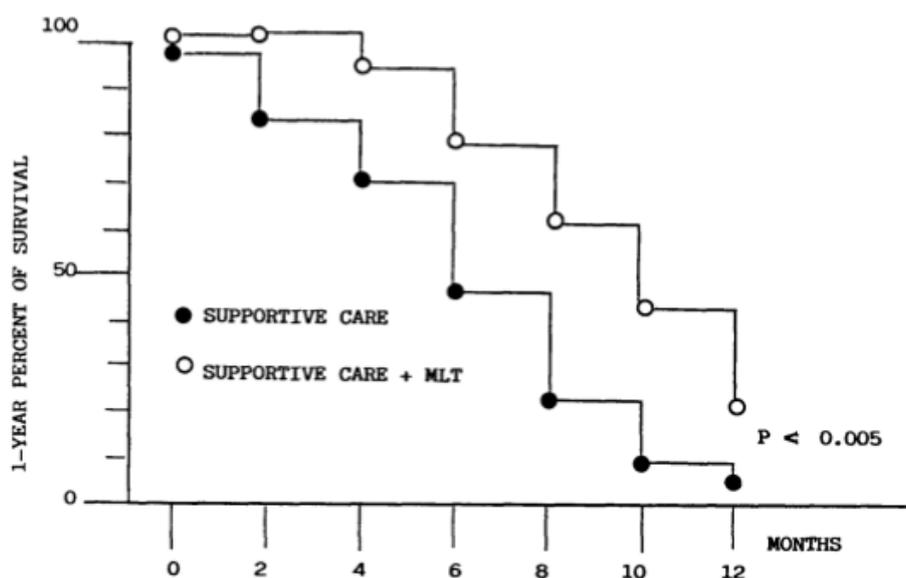
Mafi *et al* (2023) realizaron una revisión bibliográfica para evaluar la función de la melatonina como tratamiento complementario de la quimioterapia y si es capaz de aumentar su eficacia. Estudiaron el efecto de la melatonina sobre un agente quimioterápico concreto, el 5 fluorouracilo (5-FU), el cual pertenece al grupo de las pirimidinas y es un antimetabolito, capaz de entrar dentro de la célula y de inhibir el crecimiento celular al imitar a moléculas necesarias en este proceso. El 5-FU es uno de los agentes quimioterápicos más utilizados. A parte de los efectos secundarios que puede producir, uno de los principales problemas de este es el desarrollo de resistencia. Por ello, se ha evaluado la utilización de otros agentes que pueda ayudar a vencer la resistencia adquirida y disminuir los efectos secundarios, como es el caso de la melatonina. Así, por medio del análisis de numerosos ensayos *in vivo* e *in vitro* de la combinación de la melatonina con 5-FU, se llega a la conclusión de que esta hormona tiene una gran capacidad anticancerígena. En resumen, la combinación de estos tratamientos **augmenta la sensibilidad de la quimioterapia, intensifica la acción anticancerígena y reduce los efectos secundarios, mejorando la calidad de vida** del paciente. Sin embargo, estos efectos anticancerígenos no aparecen siempre y no se conocen todos los mecanismos de actuación, por ello es necesario hacer más estudios para comprender los efectos de esta hormona (108).

Lissoni (2002) describió el efecto terapéutico de la melatonina, que previamente se había visto en estudios experimentales, en pacientes con diferentes cánceres avanzados. En un primer ensayo clínico, el objetivo fue evaluar la eficacia de la melatonina en 1440 pacientes con tumores avanzados intratables que no habían respondido a terapias previas y no se podían beneficiar de los tratamientos disponibles. De forma aleatoria, los pacientes podían recibir únicamente cuidados paliativos o cuidados paliativos combinados con melatonina. Para todos los pacientes los cuidados paliativos fueron los mismos: AINES y opioides (109).

En un segundo ensayo se evaluó la eficacia terapéutica y los efectos secundarios de la melatonina como tratamiento complementario de la quimioterapia. Para ello se escogieron 200 pacientes con diferentes tumores metastásicos con resistencia a la quimioterapia y un buen pronóstico (Karnofsky >80%). De forma aleatoria, se establecieron dos grupos, uno recibía solo quimioterapia y el otro grupo quimioterapia con melatonina. La pauta quimioterapéutica se estableció según el tipo tumoral. La respuesta clínica y la toxicidad se evaluaron según los criterios de la OMS e informes específicos de los pacientes. En ambos ensayos se usó 20 mg/día de melatonina vía oral por la noche durante todos los días (por lo menos durante dos meses). En el segundo ensayo, se comenzaba la melatonina 7 días antes del primer ciclo de quimioterapia y se detenía cuando progresaba la enfermedad (109).

En el primer ensayo clínico, en el grupo tratado solo con cuidados paliativos no se observó ninguna respuesta completa o respuesta parcial. Por otro lado, en el grupo que

recibió melatonina 17 pacientes (2%) consiguieron una respuesta parcial. Esta diferencia respecto al grupo sin melatonina fue estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ). Este grupo tampoco consiguió ninguna respuesta completa. Además, hay una gran diferencia respecto a la estabilización de la enfermedad, 171 pacientes que recibieron melatonina consiguieron estabilizarse (24%) comparado con 54 pacientes que solo recibieron los cuidados paliativos (8%). La supervivencia a 1 año en pacientes que recibieron melatonina junto a los cuidados paliativos fue significativamente mayor que en el grupo que solo recibió cuidados paliativos (*Figura 19*). Por último, se observó una disminución de síntomas relacionados con la progresión tumoral (caquexia neoplásica, astenia, anorexia, depresión, trombocitopenia y linfocitopenia) en aquellos que recibieron melatonina junto los cuidados paliativos (109).



*Figura 19. Supervivencia a 1 año en pacientes intratables con cuidados paliativos junto melatonina y solo cuidados paliativos (109).*

En el segundo ensayo, mientras que no se consiguió ninguna respuesta completa en los pacientes tratados únicamente con quimioterapia, el 3% de los pacientes que recibieron melatonina como adyuvante lograron una respuesta completa. El 20% de los pacientes tratados solo con quimioterapia consiguieron una respuesta parcial, en cambio, el 30% de los pacientes que recibieron melatonina obtuvieron una respuesta parcial. El porcentaje de regresión tumoral fue significativamente mayor en los pacientes tratados con quimioterapia y melatonina. Además, hubo una reducción significativa de astenia, trombocitopenia, neurotoxicidad, cardiotoxicidad y estomatitis en los pacientes con el tratamiento combinado. Por último, la supervivencia a 1 año en los pacientes tratados con melatonina y quimioterapia fue significativamente mayor que la curva de los pacientes exclusivamente tratados con quimioterapia (*Figura 20*) (109).

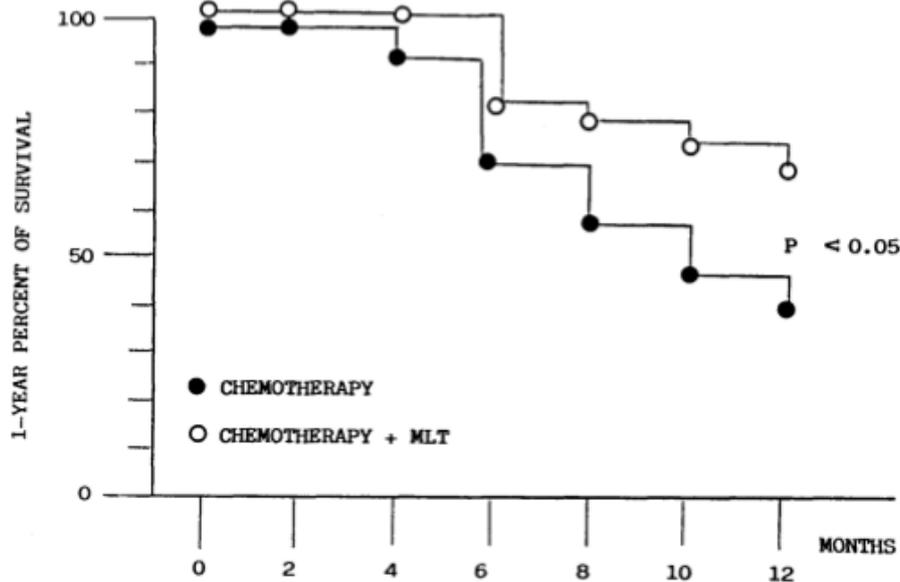


Figura 20. Curvas de supervivencia a 1 año en pacientes con tumores metastásicos tratados con quimioterapia con melatonina y solo quimioterapia (109).

La melatonina tiene un rol curativo y paliativo en el cáncer. Los trabajos de Lissoni demuestran que la melatonina tiene **acciones antitumorales cuando actúa sola** (favorece la estabilización de la enfermedad y prolonga la supervivencia) y en **combinación con quimioterapia** (favorece la regresión tumoral y alarga la supervivencia). Además, es capaz de **prevenir síntomas relacionados con la progresión tumoral y disminuir la toxicidad inducida por la quimioterapia** (109).

En el 2007, el grupo de Lissoni evaluó la eficacia de la melatonina como adyuvante de la quimioterapia en tumores sólidos avanzados, comparando los efectos de la quimioterapia como tratamiento exclusivo del cáncer con la melatonina como tratamiento complementario de la quimioterapia [108]. Para ello, realizaron dos grupos que recibieron de forma aleatoria quimioterapia o quimioterapia con melatonina. En total el estudio incluyó 370 pacientes que tenían cáncer pulmonar de células no pequeñas, cáncer de colon y cáncer gástrico. Según la histología del tumor, la clínica y los tratamientos previos del paciente se escogieron diferentes agentes quimioterápicos. El grupo tratado con melatonina comenzó 7 días antes del primer ciclo de quimioterapia con 20 mg/día vía oral de melatonina todos los días por la noche hasta la progresión tumoral (110).

Mientras que 12 pacientes tratados con quimioterapia y melatonina alcanzaron la respuesta completa, solo 5 pacientes tratados con quimioterapia lo consiguieron. Respecto a la respuesta parcial, el grupo con el tratamiento combinado consiguió 56 respuestas parciales. En el grupo tratado solo con quimioterapia hubo 32 respuestas parciales. La tasa de respuesta en el grupo que se usaba la melatonina como adyuvante (36%) fue significativamente mayor que en el grupo tratado solo con quimioterapia (20%). En general, la respuesta fue mayor cuando se trataba con melatonina independientemente del agente quimioterápico, pero sí que es verdad que solo

alcanzaron una diferencia estadísticamente significativa los pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas tratados con cisplatino más etopósido y los pacientes con cáncer de colon tratados con oxaliplatino más 5-FU. Además, la tasa de supervivencia a 2 años fue mayor en los pacientes tratados con quimioterapia y melatonina (25%) que en los tratados solo con quimioterapia (13%) (Figura 21). Los pacientes en los que se usó la melatonina como adyuvante tuvieron menos efectos secundarios relacionados con la quimioterapia. Se observó una disminución de trombocitopenia, neurotoxicidad, astenia y caquexia relacionada con la neoplasia (110).

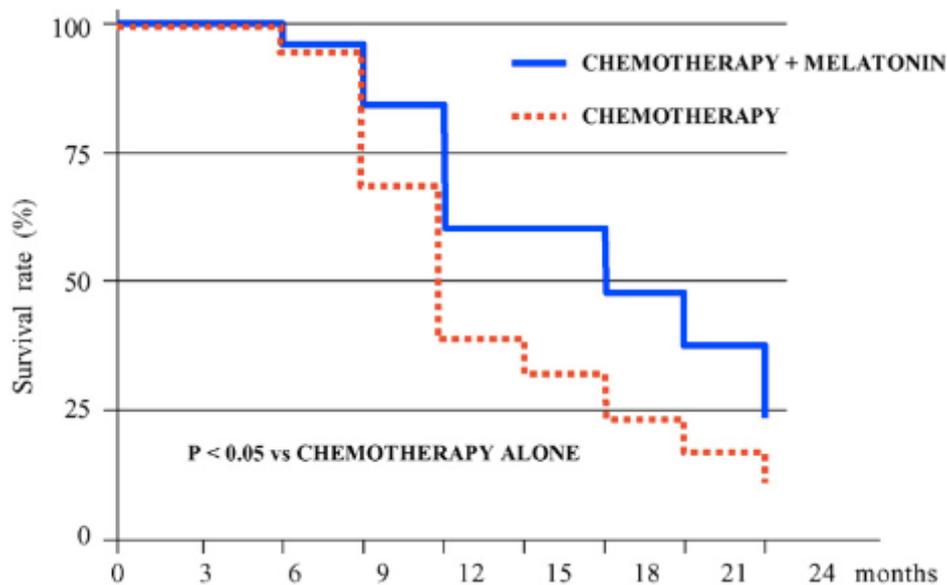


Figura 21. Supervivencia a 2 años en pacientes con tumores sólidos avanzados tratados con quimioterapia sola o con quimioterapia y melatonina (110).

Este estudio confirma que la melatonina como **adyuvante mejora la eficacia de la quimioterapia y reduce sus efectos secundarios**. Asimismo, parece que los resultados terapéuticos son más prometedores cuando se recibe el tratamiento combinado de melatonina con quimioterapia que cuando se emplea el tratamiento exclusivo con melatonina (109) o con quimioterapia. Aun así, se necesitan más estudios para definir si este efecto anticancerígeno se produce en todos los tipos tumorales o está limitado por la expresión tumoral de receptores de melatonina (110).

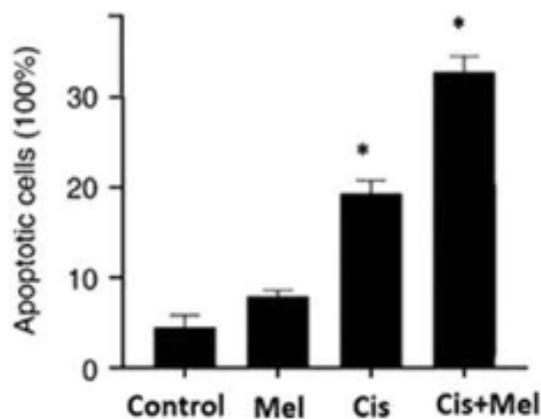
Hosseini *et al* (2022) comparan la eficacia y la repercusión de la melatonina sobre los efectos secundarios al cisplatino en pacientes con osteosarcoma. El osteosarcoma es una enfermedad maligna primaria del hueso que afecta sobre todo a gente joven. Cuando metastatiza a los pulmones suele implicar un mal pronóstico (111). El tratamiento convencional que se ha usado siempre ha sido quimioterapia neoadyuvante junto a cirugía, de esta manera se conseguía alargar en cierta medida la supervivencia del paciente. Sin embargo, los pacientes con metástasis suelen tener muy mal pronóstico (112). Aunque el cisplatino se use mucho, tiene gran cantidad de efectos secundarios y las células cancerígenas suelen desarrollar resistencia a él (113). En este

estudio se evalúa si la melatonina es capaz de aumentar la eficacia del cisplatino y reducir sus efectos secundarios. En él se pudo observar que la melatonina usada con el cisplatino aumentaba la eficacia del efecto citotóxico sobre las células cancerígenas (114).

También se pudo ver que tanto el cisplatino como la melatonina (en menor medida) pueden reducir la expresión o regulación Bcl2, un gen inhibidor de la apoptosis, pero cuando se usaban de forma combinada la expresión de Bcl2 se reducía de forma significativa (114).

Tanto el cisplatino como la melatonina (en menor medida) fueron capaces de aumentar la expresión de genes supresores de tumores, como p53. Sobre todo, se vio un aumento significativo en la expresión de estos genes cuando se combinaba la melatonina con el cisplatino (114).

Respecto al efecto sobre la apoptosis, se pudo observar que, aunque el cisplatino y la melatonina (en menor medida) aumentaron de forma significativa la tasa de apoptosis en las células cancerígenas, la combinación de los dos tratamientos producía un aumento significativo (*Figura 22*) (114).



*Figura 22. Tasa de apoptosis en células MG63 tratadas con cisplatino, melatonina y cisplatino con melatonina (114).*

En conclusión, aunque la melatonina por sí sola tenga cierta eficacia sobre las células tumorales, cuando se combina con el cisplatino es capaz de **aumentar su efecto citotóxico, aumentar la tasa de apoptosis** y la **expresión de genes supresores de tumores** (p53) al mismo tiempo que **disminuye la expresión de oncogenes** (Bcl2) y la supervivencia de células cancerígenas. Asimismo, **reduce los efectos secundarios** producidos por la quimioterapia, lo que favorece la supervivencia de las células sanas (114).

Palmer *et al*, en 2020, examinaron el impacto de la melatonina sobre los efectos secundarios cognitivos asociados a los ciclos de quimioterapia como tratamiento del cáncer de mama. Para ello estudiaron 36 mujeres que habían sido sometidas a cirugía (mastectomía o tumorectomía). De forma aleatoria y con doble ciego se administró

melatonina o placebo a las pacientes tres días antes de comenzar con el primer ciclo de quimioterapia (AC-T: adriamicina + fosfomicina + plactaxel) y durante 10 días. La melatonina administrada era de 20 mg y se tomaba vía oral de forma diaria, una hora antes de acostarse, al mismo tiempo, el grupo control recibía cápsulas de placebo físicamente iguales que la melatonina (115).

En el grupo tratado con melatonina como adyuvante se pudo ver una reducción significativa de los efectos secundarios y una mejoría en los síntomas depresivos y en la calidad del sueño. Además, en el grupo tratado con melatonina se vieron mayores cambios en TrkB, que se relacionó con una disminución de síntomas depresivos y mejoría en la calidad del sueño. En cambio, los niveles de BDNF no se asociaron con ninguna mejoría. La melatonina podría ejercer un **efecto neuroprotector** sobre las funciones cognitivas en pacientes con cáncer, aunque se desconocen los mecanismos de esta acción. Los cambios en TrkB eran inversamente proporcionales a la mejoría del sueño y de la depresión. Además, se evidenció que la melatonina **actúa sobre la clínica depresiva y mejora la calidad de sueño**. La conclusión de este trabajo fue que el uso de la melatonina antes y durante el tratamiento con quimioterapia tuvo un claro beneficio sobre las funciones cognitivas y de atención de las pacientes (115).

## **7. CONCLUSIONES**

La melatonina es sintetizada principalmente en la glándula pineal.

Esta hormona ejerce funciones muy relevantes en una gran variedad de procesos biológicos, actúa como cronobiótico, regulador del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas, inmunoestimulador sobre la respuesta humoral y celular, antioxidante y antiinflamatorio. Sin embargo, la principal función que ha motivado este trabajo son sus acciones oncostáticas sobre diferentes tipos de cánceres.

Entre estas acciones oncostáticas cabe resaltar su efecto antiestrogénico al actuar como modular selectivo de receptores y enzimas de estrógenos (SERM y SEEM), su acción moduladora sobre el ciclo celular favoreciendo la diferenciación y la apoptosis, su efecto antioxidante de forma directa sobre ROS e indirecta sobre enzimas antioxidantes y prooxidantes y su acción antiangiogénica sobre la invasión endotelial y formación de vasos nuevos.

En estudios *in vitro* se han descrito diferentes acciones por las que la melatonina es capaz de potenciar el efecto citotóxico de agentes quimioterápicos sin inducir una toxicidad añadida. Además, la melatonina tiene la capacidad de aliviar los efectos secundarios producidos por la quimioterapia.

Asimismo, en estudios *in vivo* la melatonina ejerce una citotoxicidad selectiva hacia las células tumorales, potenciando el efecto de los quimioterápicos.

En varios ensayos clínicos la melatonina actúa de forma sinérgica con la quimioterapia, favoreciendo la regresión tumoral y aumentando la supervivencia. Además, mejora la calidad de vida de los pacientes al reducir la toxicidad de la quimioterapia.

Dado que aún no se conocen totalmente los mecanismos por los que la melatonina ejerce la mayoría de sus efectos antitumorales y sinérgicos con la quimioterapia, es necesario que se hagan más estudios en el futuro, para establecer con mayor precisión cómo la melatonina desempeña estas acciones y cuál sería la mejor dosis y forma de administración de ésta.

## **8. AGRADECIMIENTOS**

Me gustaría agradecer en primer lugar a mi tutor, Samuel, porque sin su dedicación y sus consejos no podría haber realizado este trabajo.

También me gustaría mencionar a todas las grandes amistades que me ha dejado esta carrera a lo largo de estos seis años, ya que han sido un pilar fundamental, no solo en lo académico, sino también en lo personal. Espero que en un año estemos todos trabajando en lo que nos apasiona. Tampoco quiero dejarme a mis amigas de la infancia y del instituto, que gracias a su apoyo incondicional he llegado hasta aquí.

Por último, quiero dar las gracias a mi familia, en especial a mis padres y mi hermano, que han sido siempre los primeros en ayudarme, sin ellos no lo habría conseguido.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. Gurunathan S, Qasim M, Kang MH, Kim JH. Role and Therapeutic Potential of Melatonin in Various Type of Cancers. *Onco Targets Ther.* marzo de 2021;Volume 14:2019-52.
2. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 4 de mayo de 2021;71(3):209-49.
3. Cardinali D, JCI, & SBE. Introducción a la cronobiología: fisiología de los ritmos biológicos (Capítulo III). Santander: Universidad de Cantabria. 1994;
4. Amaral FG do, Cipolla-Neto J. A brief review about melatonin, a pineal hormone. *Arch Endocrinol Metab.* agosto de 2018;62(4):472-9.
5. Claustrat B, Leston J. Melatonin: Physiological effects in humans. *Neurochirurgie.* abril de 2015;61(2-3):77-84.
6. Liu H, Wang F, Zhao J, Zhang X, Zeng Z, Wang S, et al. The effect and mechanisms of melatonin on the proliferation and apoptosis of lung cancer cells. *Bioengineered.* 2022;13(2):3462-9.
7. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell.* marzo de 2011;144(5):646-74.
8. Mediavilla MD, Sanchez-Barcelo EJ, Tan DX, Manchester L, Reiter RJ. Basic Mechanisms Involved in the Anti-Cancer Effects of Melatonin. Vol. 17, *Current Medicinal Chemistry.* 2010.
9. Anim-Koranteng C, Shah HE, Bhawnani N, Ethirajulu A, Alkasabera A, Onyali CB, et al. Melatonin—A New Prospect in Prostate and Breast Cancer Management. *Cureus.* 20 de septiembre de 2021;
10. Zare H, Shafabakhsh R, Reiter RJ, Asemi Z. Melatonin is a potential inhibitor of ovarian cancer: molecular aspects. *J Ovarian Res.* 26 de diciembre de 2019;12(1):26.
11. Hill SM, Frasch T, Shulin Xiang, Lin Yuan, Duplessis T, Lulu Mao. Molecular Mechanisms of Melatonin Anticancer Effects. *Integr Cancer Ther.* 29 de diciembre de 2009;8(4):337-46.
12. Sánchez-Barceló EJ, Cos S, Mediavilla D, Martínez-Campa C, González A, Alonso-González C. Melatonin-estrogen interactions in breast cancer. *J Pineal Res.* mayo de 2005;38(4):217-22.
13. Cos S, González A, Martínez-Campa C, Mediavilla MD, Alonso-González C, Sánchez-Barceló EJ. Estrogen-signaling pathway: A link between breast cancer and melatonin oncostatic actions. *Cancer Detect Prev.* enero de 2006;30(2):118-28.
14. Rato AG, Pedrero JG, Martínez MA, Del Rio B, Lazo PS, Ramos S. Melatonin blocks the activation of estrogen receptor for DNA binding. *The FASEB Journal.* mayo de 1999;13(8):857-68.
15. Molis TM, Spriggs LL, Hill SM. Modulation of estrogen receptor mRNA expression by melatonin in MCF-7 human breast cancer cells. *Molecular Endocrinology.* diciembre de 1994;8(12):1681-90.

16. Lawson NO, Wee BEF, Blask DE, Castles CG, Spriggs LL, Hill SM. Melatonin Decreases Estrogen Receptor Expression in the Medial Preoptic Area of Inbred (LSH/SsLak) Golden Hamsters. *Biol Reprod.* 1 de diciembre de 1992;47(6):1082-90.
17. Aronica SM, Kraus WL, Katzenellenbogen BS. Estrogen action via the cAMP signaling pathway: stimulation of adenylate cyclase and cAMP-regulated gene transcription. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 30 de agosto de 1994;91(18):8517-21.
18. Baldwin WS, Barrett JC. Melatonin: Receptor-mediated events that may affect breast and other steroid hormone-dependent cancers. *Mol Carcinog.* marzo de 1998;21(3):149-55.
19. Jones MP, Melan MA, Witt-Enderby PA. Melatonin decreases cell proliferation and transformation in a melatonin receptor-dependent manner. *Cancer Lett.* abril de 2000;151(2):133-43.
20. Ram PT, Dai J, Yuan L, Dong C, Kiefer TL, Lai L, et al. Involvement of the mt1 melatonin receptor in human breast cancer. *Cancer Lett.* mayo de 2002;179(2):141-50.
21. García Pedrero JM, del Rio B, Martínez-Campa C, Muramatsu M, Lazo PS, Ramos S. Calmodulin Is a Selective Modulator of Estrogen Receptors. *Molecular Endocrinology.* 1 de mayo de 2002;16(5):947-60.
22. Cos S, Martinez-Campa C, Mediavilla MD, Sanchez-Barcelo EJ. Melatonin modulates aromatase activity in MCF-7 human breast cancer cells. *J Pineal Res.* marzo de 2005;38(2):136-42.
23. Gonzalez A, Cos S, Martinez-Campa C, Alonso-Gonzalez C, Sanchez-Mateos S, Mediavilla MD, et al. Selective estrogen enzyme modulator actions of melatonin in human breast cancer cells. *J Pineal Res.* agosto de 2008;45(1):86-92.
24. Martínez-Campa C, González A, Mediavilla MD, Alonso-González C, Alvarez-García V, Sánchez-Barceló EJ, et al. Melatonin inhibits aromatase promoter expression by regulating cyclooxygenases expression and activity in breast cancer cells. *Br J Cancer.* 22 de noviembre de 2009;101(9):1613-9.
25. Santoro R, Marani M, Blandino G, Muti P, Strano S. Melatonin triggers p53Ser phosphorylation and prevents DNA damage accumulation. *Oncogene.* 14 de junio de 2012;31(24):2931-42.
26. 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.* noviembre de 2008;45(4):532-40.
27. She MH; CBB; WXM; HSS. p53-dependent anti-proliferation and apoptosis of H22 cell induced by melatonin. *Ai Zheng.*, 2004, 23, 803-807.
28. Nguyen DX, Bos PD, Massagué J. Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization. *Nat Rev Cancer.* abril de 2009;9(4):274-84.
29. 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. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* marzo de 2013;67(2):133-9.

30. Cos S, Mediavilla MD, Fernández R, González-Lamuño D, Sánchez-Barceló EJ. Does melatonin induce apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells in vitro? *J Pineal Res.* marzo de 2002;32(2):90-6.
31. Grant SG, Melan MA, Latimer JJ, Witt-Enderby PA. Melatonin and breast cancer: cellular mechanisms, clinical studies and future perspectives. *Expert Rev Mol Med.* 5 de febrero de 2009;11:e5.
32. Bodnar AG, Ouellette M, Frolkis M, Holt SE, Chiu CP, Morin GB, et al. Extension of Life-Span by Introduction of Telomerase into Normal Human Cells. *Science* (1979). 16 de enero de 1998;279(5349):349-52.
33. Martínez-Campa CM, Alonso-González C, Mediavilla MD, Cos S, González A, Sanchez-Barcelo 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.* septiembre de 2008;268(2):272-7.
34. Rodriguez C, Mayo JC, Sainz RM, Antolin I, Herrera F, Martin V, et al. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J Pineal Res.* enero de 2004;36(1):1-9.
35. Reiter RJ, Tan D xian, Manchester LC, Qi W. Biochemical Reactivity of Melatonin with Reactive Oxygen and Nitrogen Species: A Review of the Evidence. *Cell Biochem Biophys.* 2001;34(2):237-56.
36. Talib WH. Melatonin and cancer hallmarks. Vol. 23, *Molecules.* MDPI AG; 2018.
37. Wang J, Xiao X, Zhang Y, Shi D, Chen W, Fu L, et al. Simultaneous modulation of COX-2, p300, Akt, and Apaf-1 signaling by melatonin to inhibit proliferation and induce apoptosis in breast cancer cells. *J Pineal Res.* agosto de 2012;53(1):77-90.
38. Reiter RJ, Mayo JC, Tan DX, Sainz RM, Alatorre-Jimenez M, Qin L. Melatonin as an antioxidant: under promises but over delivers. *J Pineal Res.* octubre de 2016;61(3):253-78.
39. Karbownik M, Reiter RJ, Burkhardt S, Gitto E, Tan DX, Lewiński A. Melatonin Attenuates Estradiol-Induced Oxidative Damage to DNA: Relevance for Cancer Prevention. *Exp Biol Med.* 29 de julio de 2001;226(7):707-12.
40. Zhang Y, Liu Q, Wang F, Ling EA, Liu S, Wang L, et al. Melatonin antagonizes hypoxia-mediated glioblastoma cell migration and invasion via inhibition of HIF-1 $\alpha$ . *J Pineal Res.* septiembre de 2013;55(2):121-30.
41. Kim KJ, Choi JS, Kang I, Kim KW, Jeong CH, Jeong JW. Melatonin suppresses tumor progression by reducing angiogenesis stimulated by HIF-1 in a mouse tumor model. *J Pineal Res.* abril de 2013;54(3):264-70.
42. Harris AL. Hypoxia — a key regulatory factor in tumour growth. *Nat Rev Cancer.* 1 de enero de 2002;2(1):38-47.
43. Vaupel P, Mayer A. Hypoxia in cancer: significance and impact on clinical outcome. *Cancer and Metastasis Reviews.* 24 de julio de 2007;26(2):225-39.

44. Li B, Li J, Xu WW, Guan XY, Qin YR, Zhang LY, et al. Suppression of esophageal tumor growth and chemoresistance by directly targeting the PI3K/AKT pathway. *Oncotarget*. 30 de noviembre de 2014;5(22):11576-87.
45. Park SY, Jang WJ, Yi EY, Jang JY, Jung Y, Jeong JW, et al. Melatonin suppresses tumor angiogenesis by inhibiting HIF-1 $\alpha$  stabilization under hypoxia. *J Pineal Res*. marzo de 2010;48(2):178-84.
46. Karadas AK, Dilmac S, Aytac G, Tanriover G. Melatonin decreases metastasis, primary tumor growth and angiogenesis in a mice model of breast cancer. *Hum Exp Toxicol*. 1 de septiembre de 2021;40(9):1545-57.
47. Straif K, Baan R, Grosse Y, Secretan B, Ghissassi F El, Bouvard V, et al. Carcinogenicity of shift-work, painting, and fire-fighting. *Lancet Oncol*. diciembre de 2007;8(12):1065-6.
48. Fu L, Pelicano H, Liu J, Huang P, Lee CC. The Circadian Gene Period2 Plays an Important Role in Tumor Suppression and DNA Damage Response In Vivo. *Cell*. octubre de 2002;111(1):41-50.
49. Reiter RJ, Tan DX, Korkmaz A, Erren TC, Piekarski C, Tamura H, et al. Light at Night, Chronodisruption, Melatonin Suppression, and Cancer Risk: A Review. *Crit Rev Oncog*. 2007;13(4):303-28.
50. Dauchy RT, SLA, BDE, & VGM (1997). Light contamination during the dark phase in «photoperiodically controlled» animal rooms: effect on tumor growth and metabolism in rats. *Laboratory animal science*, 47(5), 511–518. .
51. Chen-Goodspeed M, Cheng Chi Lee. Tumor Suppression and Circadian Function. *J Biol Rhythms*. 29 de agosto de 2007;22(4):291-8.
52. Reiter RJ, Dan Xian Tan, Erren TC, Fuentes-Broto L, Paredes SD. Light-Mediated Perturbations of Circadian Timing and Cancer Risk: A Mechanistic Analysis. *Integr Cancer Ther*. 29 de diciembre de 2009;8(4):354-60.
53. Benítez-King G, SVE, & RRG (2009). Melatonin modulates microfilament phenotypes in epithelial cells: implications for adhesion and inhibition of cancer cell migration. *Histology and histopathology*, 24(6), 789–799. <https://doi.org/10.14670/HH-24.789> .
54. Reiter RJ, Rosales-Corral SA, Tan DX, Acuna-Castroviejo D, Qin L, Yang SF, et al. Melatonin, a full service anti-cancer agent: Inhibition of initiation, progression and metastasis. Vol. 18, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2017.
55. deHaro D, Kines KJ, Sokolowski M, Dauchy RT, Strevva VA, Hill SM, et al. Regulation of L1 expression and retrotransposition by melatonin and its receptor: implications for cancer risk associated with light exposure at night. *Nucleic Acids Res*. 8 de julio de 2014;42(12):7694-707.
56. Wu SM, Lin WY, Shen CC, Pan HC, Keh-Bin W, Chen YC, et al. Melatonin set out to ER stress signaling thwarts epithelial mesenchymal transition and peritoneal dissemination via calpain-mediated C/EBP  $\beta$  and NF  $\kappa$  B cleavage. *J Pineal Res*. marzo de 2016;60(2):142-54.
57. Zhou Q, Gui S, Zhou Q, Wang Y. Melatonin Inhibits the Migration of Human Lung Adenocarcinoma A549 Cell Lines Involving JNK/MAPK Pathway. *PLoS One*. 3 de julio de 2014;9(7):e101132.

58. Su SC, Hsieh MJ, Yang WE, Chung WH, Reiter RJ, Yang SF. Cancer metastasis: Mechanisms of inhibition by melatonin. *J Pineal Res.* enero de 2017;62(1):e12370.
59. Borin TF, Arbab AS, Gelaleti GB, Ferreira LC, Moschetta MG, Jardim-Perassi BV, et al. Melatonin decreases breast cancer metastasis by modulating Rho-associated kinase protein-1 expression. *J Pineal Res.* enero de 2016;60(1):3-15.
60. Srinivasan V, Spence DW, Trakht I, Pandi-Perumal SR, Cardinali DP, Maestroni GJ. Immunomodulation by Melatonin: Its Significance for Seasonally Occurring Diseases. *Neuroimmunomodulation.* 2008;15(2):93-101.
61. Carrillo-Vico A, Calvo JR, Abreu P, Lardone PJ, García-Mauriño S, Reiter RJ, et al. Evidence of melatonin synthesis by human lymphocytes and its physiological significance: possible role as intracrine, autocrine, and/or paracrine substance. *The FASEB Journal.* 8 de marzo de 2004;18(3):537-9.
62. Korkmaz A, Sanchez-Barcelo EJ, Tan DX, Reiter RJ. Role of melatonin in the epigenetic regulation of breast cancer. Vol. 115, *Breast Cancer Research and Treatment.* 2009. p. 13-27.
63. Blask DE. 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.* 4 de febrero de 2004;25(6):951-60.
64. Dauchy EM, Dauchy RT, Tirrell RP, Davidson LK, Hill SM, Sauer LA, et al. Dietary Melatonin and Omega-3 Fatty Acids Induce Human Cancer Xenograft Regression In Vivo in Rats by Suppressing Linoleic Acid Uptake and Metabolism. *Comp Med.* 1 de agosto de 2021;71(4):309-17.
65. Bray F, Laversanne M, Weiderpass E, Soerjomataram I. The ever-increasing importance of cancer as a leading cause of premature death worldwide. *Cancer.* 15 de agosto de 2021;127(16):3029-30.
66. Kvietkauskas M, Zitkute V, Leber B, Strupas K, Stiegler P, Schemmer P. The role of melatonin in colorectal cancer treatment: a comprehensive review. Vol. 12, *Therapeutic Advances in Medical Oncology.* SAGE Publications Inc.; 2020.
67. Fic M, Gomulkiewicz A, Grzegorzolka J, Podhorska-Okolow M, Zabel M, Dziegiel P, et al. The Impact of Melatonin on Colon Cancer Cells' Resistance to Doxorubicin in an in Vitro Study. *Int J Mol Sci.* 29 de junio de 2017;18(7):1396.
68. 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.* mayo de 2013;54(4):406-16.
69. Asghari MH, Ghobadi E, Moloudizargari M, Fallah M, Abdollahi M. Does the use of melatonin overcome drug resistance in cancer chemotherapy? Vol. 196, *Life Sciences.* Elsevier Inc.; 2018. p. 143-55.
70. Lippert TH, Ruoff HJ, Volm M. Current Status of Methods to Assess Cancer Drug Resistance. *Int J Med Sci.* 2011;8(3):245-53.

71. Pariente R, Bejarano I, Rodríguez AB, Pariente JA, Espino J. Melatonin increases the effect of 5-fluorouracil-based chemotherapy in human colorectal adenocarcinoma cells in vitro. *Mol Cell Biochem.* 17 de marzo de 2018;440(1-2):43-51.
72. Casado-Zapico S, Rodriguez-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;48(1):72-80.
73. Franco PIR, do Carmo Neto JR, Milhomem AC, Machado JR, Miguel MP. Antitumor effect of melatonin on breast cancer in experimental models: A systematic review. Vol. 1878, *Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer.* Elsevier B.V.; 2023.
74. Uguz AC, Cig B, Espino J, Bejarano I, Naziroglu M, Rodríguez AB, et al. Melatonin potentiates chemotherapy-induced cytotoxicity and apoptosis in rat pancreatic tumor cells. *J Pineal Res.* agosto de 2012;53(1):91-8.
75. Plaimee P, Weerapreeyakul N, Barusrux S, Johns NP. Melatonin potentiates cisplatin-induced apoptosis and cell cycle arrest in human lung adenocarcinoma cells. *Cell Prolif.* 1 de febrero de 2015;48(1):67-77.
76. Pourhanifeh MH, Sharifi M, Reiter RJ, Davoodabadi A, Asemi Z. Melatonin and non-small cell lung cancer: New insights into signaling pathways. Vol. 19, *Cancer Cell International.* BioMed Central Ltd.; 2019.
77. Fic M, POM, DP, GE, WT, DZM, & ZM (2007). Effect of melatonin on cytotoxicity of doxorubicin toward selected cell lines (human keratinocytes, lung cancer cell line A-549, laryngeal cancer cell line Hep-2). *In vivo (Athens, Greece)*, 21(3), 513–518.
78. González-González A, González A, Rueda N, Alonso-González C, Menéndez JM, Martínez-Campa C, et al. Usefulness of melatonin as complementary to chemotherapeutic agents at different stages of the angiogenic process. *Sci Rep.* 1 de diciembre de 2020;10(1).
79. Abotaleb M, Kubatka P, Caprnda M, Varghese E, Zolakova B, Zubor P, et al. Chemotherapeutic agents for the treatment of metastatic breast cancer: An update. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* mayo de 2018;101:458-77.
80. Xu YC, Wang HX, Tang L, Ma Y, Zhang FC. A Systematic Review of Vinorelbine for the Treatment of Breast Cancer. *Breast J.* marzo de 2013;19(2):180-8.
81. Alvarez-García V, González A, Alonso-González C, Martínez-Campa C, Cos S. Antiangiogenic effects of melatonin in endothelial cell cultures. *Microvasc Res.* mayo de 2013;87:25-33.
82. 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.* 28 de noviembre de 2017;
83. Trenti A, Tedesco S, Boscaro C, Trevisi L, Bolego C, Cignarella A. Estrogen, Angiogenesis, Immunity and Cell Metabolism: Solving the Puzzle. *Int J Mol Sci.* 15 de marzo de 2018;19(3):859.

84. Miyoshi Y, Kim SJ, Akazawa K, Kamigaki S, Ueda S, Yanagisawa T, et al. Down-Regulation of Intratumoral Aromatase Messenger RNA Levels by Docetaxel in Human Breast Cancers. *Clinical Cancer Research*. 15 de diciembre de 2004;10(24):8163-9.
85. Sohn EJ, Won G, Lee J, Lee S, Kim S hoon. Upregulation of miRNA3195 and miRNA374b Mediates the Anti-Angiogenic Properties of Melatonin in Hypoxic PC-3 Prostate Cancer Cells. *J Cancer*. 2015;6(1):19-28.
86. 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)*. 29 de junio de 2021;13(13):3263.
87. 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*. marzo de 2017;62(2):e12380.
88. 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;7(10).
89. Menéndez-Menéndez J, Hermida-Prado F, Granda-Díaz R, González A, García-Pedrero JM, 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)*. 19 de julio de 2019;11(7):1011.
90. Bulun SE, Chen D, Lu M, Zhao H, Cheng Y, Demura M, et al. Aromatase excess in cancers of breast, endometrium and ovary. *J Steroid Biochem Mol Biol*. agosto de 2007;106(1-5):81-96.
91. 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*. 2 de agosto de 2019;20(16).
92. Rustgi AK, El-Serag HB. Esophageal Carcinoma. *New England Journal of Medicine*. 25 de diciembre de 2014;371(26):2499-509.
93. Pennathur A, Gibson MK, Jobe BA, Luketich JD. Oesophageal carcinoma. *The Lancet*. febrero de 2013;381(9864):400-12.
94. Ohashi S, Miyamoto S, Kikuchi O, Goto T, Amanuma Y, Muto M. Recent Advances From Basic and Clinical Studies of Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Gastroenterology*. diciembre de 2015;149(7):1700-15.
95. Granzotto M, Rapozzi V, Decorti G, Giraldi T. Effects of melatonin on doxorubicin cytotoxicity in sensitive and pleiotropically resistant tumor cells. *J Pineal Res*. octubre de 2001;31(3):206-13.
96. Tripathi DN, Jena GB. Effect of melatonin on the expression of Nrf2 and NF- $\kappa$ B during cyclophosphamide-induced urinary bladder injury in rat. *J Pineal Res*. mayo de 2010;48(4):324-31.

97. Dzięgiel P, Jethon Z, Suder E, Sopel M, Rabczyński J, Surowiak P, et al. Role of exogenous melatonin in reducing the cardiotoxic effect of daunorubicin and doxorubicin in the rat. *Experimental and Toxicologic Pathology*. enero de 2002;53(6):433-9.
98. Xiang S, Dauchy RT, Hauch A, Mao L, Yuan L, Wren MA, et al. Doxorubicin resistance in breast cancer is driven by light at night-induced disruption of the circadian melatonin signal. *J Pineal Res*. 1 de agosto de 2015;59(1):60-9.
99. Lissoni P, Barni S, Mandala M, Ardizzoia A, Paolorossi F, Vaghi M, et al. Decreased Toxicity and Increased efficacy of Cancer Chemotherapy Using the Pineal Hormone Melatonin in Metastatic Solid Tumour Patients with Poor Clinical Status. Vol. 35, *Eur J Cancer*. 1999.
100. Lissoni P, Chilelli M, Villa S, Cerizza L, Tancini G. Five years survival in metastatic non-small cell lung cancer patients treated with chemotherapy alone or chemotherapy and melatonin: a randomized trial. *J Pineal Res*. agosto de 2003;35(1):12-5.
101. Maleki Dana P, Sadoughi F, Reiter RJ, Mohammadi S, Heidar Z, Mirzamoradi M, et al. Melatonin as an adjuvant treatment modality with doxorubicin. Vol. 200, *Biochimie*. Elsevier B.V.; 2022. p. 1-7.
102. Tran QH, Hoang DH, Song M, Choe W, Kang I, Kim SS, et al. Melatonin and doxorubicin synergistically enhance apoptosis via autophagy-dependent reduction of AMPK $\alpha$ 1 transcription in human breast cancer cells. *Exp Mol Med*. 28 de septiembre de 2021;53(9):1413-22.
103. Fan LL. Melatonin and Doxorubicin synergistically induce cell apoptosis in human hepatoma cell lines. *World J Gastroenterol*. 2010;16(12):1473.
104. Jadid MFS, 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*. 28 de junio de 2021;36(6):1061-9.
105. Durdagi G, Pehlivan DY, Oyar EO, Bahceci SA, Ozbek M. Effects of Melatonin and Adrenomedullin in Reducing the Cardiotoxic Effects of Doxorubicin in Rats. *Cardiovasc Toxicol*. 3 de mayo de 2021;21(5):354-64.
106. Hrenák, J., Arendášová, K., Rajkovičová, R., Aziriová, S., Repová, K., Krajčírovičová K, et al. Protective effect of captopril, olmesartan, melatonin and compound 21 on doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. *Physiol Res*. 30 de noviembre de 2013;S181-9.
107. Montilla P, TI, MMC, SJV, & LA (1997). Antioxidative effect of melatonin in rat brain oxidative stress induced by Adriamycin. *Revista española de fisiología*, 53(3), 301–305. .
108. Mafi A, Rezaee M, Hedayati N, Hogan SD, Reiter RJ, Aarabi MH, et al. Melatonin and 5-fluorouracil combination chemotherapy: opportunities and efficacy in cancer therapy. Vol. 21, *Cell Communication and Signaling*. BioMed Central Ltd; 2023.
109. Lissoni P. Is there a role for melatonin in supportive care? Vol. 10, *Supportive Care in Cancer*. 2002. p. 110-6.
110. Lissoni P. Biochemotherapy with standard chemotherapies plus the pineal hormone melatonin in the treatment of advanced solid neoplasms. *Pathologie Biologie*. abril de 2007;55(3-4):201-4.

111. Czarnecka AM, Synoradzki K, Firlej W, Bartnik E, Sobczuk P, Fiedorowicz M, et al. Molecular Biology of Osteosarcoma. *Cancers (Basel)*. 31 de julio de 2020;12(8):2130.
112. Zhao X, Wu Q, Gong X, Liu J, Ma Y. Osteosarcoma: a review of current and future therapeutic approaches. *Biomed Eng Online*. 2 de marzo de 2021;20(1):24.
113. Wang Y, Deng X, Yu C, Zhao G, Zhou J, Zhang G, et al. Synergistic inhibitory effects of capsaicin combined with cisplatin on human osteosarcoma in culture and in xenografts. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 16 de diciembre de 2018;37(1):251.
114. Hosseini F, Shanehbandi D, Soleimanpour J, Yousefi B, Alemi F. Melatonin Increases the Sensitivity of Osteosarcoma Cells to Chemotherapy Drug Cisplatin. *Drug Res*. 1 de julio de 2022;72(6):312-8.
115. Palmer ACS, Zortea M, Souza A, Santos V, Biazús JV, Torres ILS, et al. Clinical impact of melatonin on breast cancer patients undergoing chemotherapy; effects on cognition, sleep and depressive symptoms: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *PLoS One*. 1 de abril de 2020;15(4).