

Melatonin Anticancer Effects. Review.

Di Bella Giuseppe ^{1,*}, Mascia Fabrizio ¹, Gualano Luciano² and Di Bella Luigi ²

¹ Fondazione Di Bella, via G. Marconi 51, Bologna (Italy); posa@giuseppedibella.it

² Laboratorio Privato di Fisiologia, Via Marianini, Modena (Italy).

Abstract: La melatonina (N-acetil-5-metossitriptamina, MLT), il principale inereceto della ghiandola pineale, esercita proprietà, oltre la regolazione circadiana, anche antiossidanti, antinvecchiamento ed immunomodulatorie. La MLT svolge un ruolo rilevante nella crasi ematica, nella dinamica midollare, nella piastrinogenesi, nella protezione degli endoteli vasali, come nell'aggregazione piastrinica, nella regolazione della formula leucocitaria e sintesi dell'emoglobina. Sono altresì documentate le rilevanti e atossiche proprietà apoptotiche, oncostatiche, angiogenetiche, differenzianti, antiproliferative di questo indolo su tutte le patologie neoplastiche, sia solide che liquide. Attraverso la sua notevole versatilità funzionale, la MLT può infatti esercitare un effetto antitumorale sia diretto che indiretto in sinergismo fattoriale con altre molecole differenzianti/antiproliferative/immunomodulanti/trofiche del metodo di cura antitumorale formulato da Luigi Di Bella (Metodo Di Bella, MDB: Somatostatina, Retinoidi, Acido Ascorbico, Vitamina D3, Inibitori prolattinici, Condroitinsolfato). L'interazione della MLT con le molecole MDB contrasta i molteplici processi che caratterizzano il fenotipo neoplastico (induzione, promozione, progressione e/o disseminazione, mutazione tumorale). Tutte queste peculiarità suggeriscono l'impiego di tale molecola nelle patologie oncologiche.

Keywords: Melatonina; Apoptosi; Angiogenesi; Sistema APUD; Metodo Di Bella.

1. Introduzione. Considerazioni generali sull'attività antitumorale della melatonina.

Le funzioni della MLT interessano molteplici processi fisiologici, tra cui la regolazione dei ritmi circadiani, i cambi stagionali, il sonno, la funzione riproduttiva e quella cardiovascolare [1]. Inoltre, la MLT modula anche le funzioni del sistema immunitario ed emopoietico [2].

E' oramai altresì assodato come la La MLT eserciti un deciso effetto antiossidante dose-dipendente e di protezione dal danno di sostanze chimiche carcinogene con azione "*Free Radical Scavenger*" [3]. Tale azione è sperimentalmente riproducibile, con implicazioni rilevanti nella prevenzione e terapia dei tumori. Numerosi studi hanno cercato di definire gli effetti in vitro della MLT sulla proliferazione di linee cellulari neoplastiche e sull'apoptosi delle stesse. Non si è riscontrata una risposta univoca poiché l'azione della MLT varia in funzione della varietà istologica, della differenziazione cellulare, della sensibilità a molecole oncogene e delle condizioni del terreno di coltura [4-5].

La variabilità dell'efficacia antitumorale della MLT in vitro dipende dalle limitazioni e condizionamenti del terreno di coltura cellulare, privo ovviamente del "contesto biologico" e delle complesse e multiformi interazioni con cui la MLT in vivo realizza le sue proprietà antitumorali [6]. In aggiunta, le dinamiche di divisione delle cellule normali e di quelle tumorali dipendono e sono coordinate anche da una successione di segna-tempi circadiani MLT-correlati [7].

Infine, anche la documentata capacità della MLT di regolare negativamente sia la trascrizione del gene del recettore dell'estrogeno (ER) [8-9], che le potenzialità oncogene dell'asse Growth

Hormone (GH) con il Prolattina-Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1) e di fattori di crescita GH-dipendenti come l'Epidermal Growth Factor (EGF), il Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), il Fibroblast Growth Factor (FGF), il Platelet Derived Growth Factor (PDGF), il Transforming Growth Factor (TGF), o l'Hepatocyte Growth Factor (HGF), sono aspetti di una sicura valenza antitumorale [10-18].

2. Principali meccanismi antitumorali diretti della melatonina.

2.1. Pro-apoptotica: l'azione antitumorale diretta si attua inibendo la proliferazione e la crescita delle cellule tumorali; ostacolando quindi la tendenza delle cellule sane a divenire neoplastiche; inducendo il ricambio cellulare e la sostituzione di cellule tumorali con cellule sane attraverso il meccanismo dell'apoptosi. La via intrinseca, mitocondrio dipendente, della attivazione delle caspasi (cistein-aspartasi) costituisce il "punto di non ritorno" verso la morte cellulare programmata indotta dalla MLT [19-20]. Numerosi studi documentano le proprietà antitumorali della MLT nelle neoplasie solide e nelle leucemie, con particolare efficacia in quelle linfoproliferative [21-22]. L'uso della MLT affiancata all'Ac. Retinoico, sulle cellule del tumore della mammella ormonodipendente MCF-7, ha rilevato una completa cessazione della crescita cellulare e una riduzione del numero delle cellule tramite l'attivazione dell'apoptosi [23-26].

2.2. Antiproliferativa: vari studi hanno mostrato come la MLT possieda spiccate proprietà oncostatiche, che possono ridurre la promozione o la progressione tumorale. Diversi autori hanno documentato che le proprietà antiproliferative della MLT si realizzano mediante l'inibizione/blocco del ciclo cellulare [27-29].

Il dato è confermato da studi clinici in cui, secondo l'affermazione di Luigi Di Bella, la MLT da sola non guarisce alcun tumore, ma senza MLT è difficile guarire qualsiasi tumore. La MLT rappresenta pertanto in oncoterapia una componente assolutamente necessaria, anche se non sufficiente [30-33].

Vi sono studi che hanno dimostrato l'effetto inibitorio diretto e selettivo della melatonina sui processi di crescita cellulare linfoblastoide [34-35]; El Missiry et al. hanno studiato l'effetto della MLT sulle cellule del carcinoma epatico ascite di Ehrlich (EAC), notando che non solo ne riduceva vitalità e volume, aumentando la sopravvivenza degli animali da esperimento, ma che induceva apoptosi nelle cellule tumorali EAC [36].

Un dato clinico significativo emerge da uno studio su 250 ammalati di varie forme neoplastiche metastatizzate, avanzate, in cui il tasso di sopravvivenza a 1 anno e il tasso di oggettiva regressione del tumore erano molto più alti nei pazienti trattati anche con MLT, rispetto a quelli che avevano ricevuto solo chemioterapia. Inoltre, la somministrazione di MLT riduceva in maniera significativa trombocitopenia, neurotossicità, cardiotoxicità, stomatiti e astenia [37].

Mediavilla, Sancez-Barcelo et al. hanno osservato un'interessante modalità d'azione oncostatica della MLT, attraverso l'attivazione e l'incremento dei geni soppressori p21/WAF1 e p53 che agiscono arrestando il ciclo riproduttivo cellulare tumorale [38]. Sono state studiate, in vitro, le cellule dell'adenocarcinoma mammario umano (MCF-7) e accertato che, a concentrazioni fisiologiche, dopo 48 ore, la MLT riduce il numero e la vitalità delle cellule neoplastiche. L'anno precedente fu pubblicato uno studio sull'effetto della MLT, insieme alla Somatostatina, sul cancro murino del colon (Colon-38), evidenziando, oltre l'effetto antiproliferativo, un'evidente azione proapoptotica [39].

2.3. Differenziante: al 7° Eur. Pin. Soc. Colloquium a Sitges nel 1966, furono presentate diverse relazioni sull'effetto oncostatico della MLT e sulla sua proprietà di inibire la diffusione metastatica delle cellule tumorali. Fu dimostrato che alcuni geni oncogeni, tra cui Rat sarcoma (RAS; Hras, Kras, NRas) sono significativamente inibiti dalla MLT [40]. Meccanismi biochimici e molecolari dell'azione oncostatica della MLT comprendono anche l'architettura del citoscheletro e la funzione intracellulare di ossidoriduzione (Redox). Un meccanismo importante di mediazione della melatonina, sull'azione inibitoria della crescita circadiano-dipendente del tumore, è la soppressione del recettore del fattore di crescita epidermico (Epidermal growth factor receptor, EGFR) e dell'attività della protein-chinasi mitogeno-attivata (Mitogen-activated protein kinase, MAPK) [41, 7, 42]. Questo avverrebbe attraverso l'ossidazione dell'acido linoleico e la sua conversione in acido 13-idrossioctadecadienoico (13-Hode) in grado di attivare sia EGFR che MAPK [43-44].

2.4. Anti-Angiogenetica: altri potenziali meccanismi riguardano la capacità della melatonina di ridurre l'angiogenesi tumorale, inibendo l'espressione della proteina HIF-1alpha, inducendo ipossia nelle cellule cancerose ed agendo sul Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF). [45-48].

3. Principali meccanismi antitumorali indiretti della melatonina.

3.1. Azione Free Radical Scavenger: contrasta la carcinogenesi mediante effetti antiossidanti ed anti-radicali liberi [49-53]. Limita la tossicità dei chemioterapici, potenziandone contemporaneamente la risposta clinica [54-55]. La chemioterapia causa un'evidente diminuzione dei livelli sierici di melatonina [56].

3.2. Azione Mieloprotettiva/Mielostimolante: la mielosoppressione rappresenta un grave danno dei protocolli chemioterapici. La MLT protegge il midollo osseo e i relativi tessuti linfoidei dagli effetti tossici chemioterapici, esercita una mieloprotezione, con riflessi determinanti sulla crisi ematica, la dinamica midollare, la eritro-leuco-trombocitopoiesi [57-59].

Un dato essenziale scoperto circa 30 anni fa da Di Bella è la stretta interazione funzionale tra MLT e piastrina. Quest'associazione è indispensabile, per comprendere una quantità di fenomeni essenziali non solo per la fisiologia del sangue, ma di tutti i tessuti, in particolare del sistema nervoso sia centrale sia periferico. Il supporto funzionale della MLT è la piastrina che la veicola in strutture del suo citoplasma, i "corpi densi", dove con meccanismo omeostatico viene mobilizzata in base alla concentrazione plasmatica [60-61].

La coniugazione con l'Adenosina, mediante il legame d'idrogeno, secondo la formulazione di Luigi Di Bella (Figura 2), rende la MLT perfettamente idro-solubile ed assimilabile dalle membrane cellulari. Le piastrine aderiscono alla parete del Megacariocita, possono liberare la Melatonina già legata alla Adenosina. La Melatonina si può legare a ATP, ADP, AMP, acidi polinucleici e ribonucleici ed è a questo livello che esplica la sua azione antiblastica [62-64].

3.3. Azione della melatonina nella regolazione del sistema immunitario: la MLT è coinvolta nella regolazione cellulare e umorale dell'organismo, agendo come molecola endocrina, autocrina e/o paracrina [65]. Questa attività viene sostenuta dalla sua espressione recettoriale sia nucleare che di membrana, con una caratteristica intrinseca delle popolazioni linfoitarie umane. L'esistenza di specifici recettori per la MLT in cellule linfoidee attesta questo effetto indiretto nella regolazione e potenziamento della risposta immunitaria [66-68].

Questi siti di legame proteici sono stati descritti oltre che nei linfociti umani anche nei granulociti e nei serbatoi biologici linfoidi (Timo, Milza, Borsa di Fabrizio, etc). E' documentato pertanto il fondamentale ruolo fisiologico della MLT nel sistema immunitario umano [67, 69]. La regolazione umorale si esplica attraverso la produzione di citochine nelle cellule immunocompetenti. La MLT non solo stimolerebbe la produzione delle cellule natural killer, monociti e leucociti, ma aumenterebbe la produzione di Interleukina 2-6-10-12 (IL-2-6-10-12) e Interferone-gamma (IFN- γ) da parte delle cellule mononucleate, promuovendo una risposta linfocitaria T helper 1 (Th-1) [70-73].

4. Meccanismi d'azione e fisiologia della melatonina nei tumori.

4.1. Il sistema recettoriale: sebbene la molecola sia altamente diffusibile ed eserciti effetti sistemici mediante almeno due processi intracellulari quali la modulazione delle funzioni mitotiche e citoscheletriche attraverso il legame con la calmodulina [74-75] e il free radical scavenger [76], sono stati identificati due recettori specifici, MT1 e MT2 [77-78]. Inizialmente caratterizzati al livello del sistema nervoso centrale, i recettori per la MLT sono stati localizzati in tutti i distretti e tipi cellulari, tra cui cellule del sistema emopoietico come i linfociti, megacariociti, piastrine, cellule intestinali, prostatiche, tubulari renali, miociti cardiaci [79-81, 69].

Per le caratteristiche chimiche e il basso peso molecolare (232,278 kDa), la MLT diffonde facilmente sia nei liquidi extracellulari che dentro le cellule stesse, in cui sono stati individuati recettori nucleari della classe dei recettori nucleari orfani di ligandi [82]. Da punto di vista chimico alcuni di questi recettori nucleari MLT presentano delle similitudini strutturali con i recettori dei retinoidi (recettori ROR e RZR) [83-84] e della vitamina D (Vitamin D Receptor, VDR) [85-86].

Questi recettori nucleari melatoninici sono particolarmente diffusi nel sistema nervoso centrale, con primaria concentrazione nell'Epifisi, Talamo, Ipotalamo, Nucleo soprachiasmatico, Corteccia cerebrale, Collicolo superiore della Lamina quadrigemina, Abenule, Pars tuberalis, Adenoipofisi e Cervelletto [87-91]; è ipotizzabile una presenza pressoché ubiquitaria dei recettori melatoninici a ulteriore conferma del ruolo primario della MLT nelle funzioni vitali. Le proprietà chimiche-metaboliche legate a questi recettori possono aiutare a comprendere alcuni meccanismi d'azione antitumorale della MLT.

Di Bella, anticipando anche in questo recenti acquisizioni, afferma che l'effetto principale antitumorale della MLT consiste nel disporre ubiquitariamente gli esteri fosforici di AMP, ADP, ATP [92, 62, 93].

E' ormai accettato che la MLT influenzi l'attività cellulare agendo principalmente sugli esteri fosforici dell'Adenosina e su altri sistemi di traduzione di segnale quali: l'inibizione della adenilatociclastasi mediata dalle proteine C; l'inibizione della mobilizzazione di Ca²⁺; l'inibizione del rilascio di Ac. Arachidonico; l'azione sulla Proteina-Chinasi C; l'apertura dei canali di potassio [94-100].

4.2. Il sistema Amine Precursor Uptake and Decarboxylation (APUD): Kvetnoi et al. [101] hanno confermato il ruolo attivo della MLT e delle molecole di derivazione Amine Precursor Uptake and Decarboxylation (APUD), sia sull'eziopatogenesi e proliferazione tumorale, che nella terapia antitumorale. L'analisi delle caratteristiche fisiologiche di molte sostanze biologicamente attive, prodotte dal Diffuse Neuro-Endocrine System (DNES) [102] quali melatonina, serotonina, gastrina, insulina, glucagone, somatostatina, ecc conferma un importante ruolo degli increti di queste cellule negli stadi di insorgenza e proliferazione neoplastica; mentre è significativa una diminuzione del

numero di queste cellule negli stadi tumorali terminali [103].

La secrezione ormonale nelle neoplasie non endocrine, ha un grande significato teorico e pratico, confermato da molti AA, come Maluf, Koerner e Bonkhoff [104-105].

La presenza di cellule endocrine nelle metastasi dei carcinomi studiati, conferma la natura maligna di queste cellule. Gli AA hanno anche documentato una significativa correlazione tra il tipo istologico di tumore, e le proprietà biologiche delle molecole da esso prodotti, cioè MLT, serotonina, somatostatina, dotate di attività antiproliferativa [106]. Queste sostanze erano più frequenti nei tumori maggiormente differenziati come adenocarcinomi e carcinomi delle cellule squamose con cheratinizzazione, mentre catecolamina, istamina, insulina e gastrina, TSH, sostanze inducenti l'attività proliferativa, erano solitamente frequenti nei tumori a più alto indice proliferativo, più aggressivi, meno differenziati come carcinomi solidi, carcinomi a cellule squamose senza cheratinizzazione. Questi dati orientano a ritenere che la produzione di MLT, e dei relativi peptidi APUD, in situ, nei carcinomi non endocrini, svolga un ruolo determinante nei meccanismi autocrini di omeostasi tumorale, promuovendo, rallentando, inibendo o prevenendo la progressione e la metastatizzazione.

Un'ulteriore conferma viene da studi, relativi al significativo incremento delle cellule immunopositive per la MLT, nell'adenocarcinoma umano del seno non metastatico [107]. Altra conferma proviene dalle pubblicazioni che hanno studiato l'effetto oncostatico della MLT, sulla ghiandola mammaria in topi transgenici con N-ras proto-oncogene, e hanno dimostrato che la MLT riduce l'incidenza di noduli alveolari iperplastici, e la presenza della proteina N-ras, nelle lesioni iperplastiche focali [40].

Maestroni e Conti hanno rilevato concentrazioni di MLT triple nelle cellule neoplastiche della mammella rispetto al tasso serico di persone sane [108].

Le cellule epiteliali e quelle APUD originano dalle comuni cellule staminali, e la presenza di cellule APUD nei tumori non endocrini dipende dal livello di trasformazione maligna. La secrezione ormonale nei tumori originati da aggregati cellulari non endocrini, non è un segno autonomo, ma piuttosto un elemento geneticamente indotto, determinato dalla genesi e dalla differenziazione delle cellule. Questo processo è associato direttamente al potenziale di crescita, divisione e differenziazione delle cellule, pertanto non va sottovalutato l'aspetto prognostico derivante dall'individuazione della composizione chimica e attività biologica ormonale prodotta da queste cellule tumorali.

4.3. Le piastrine ed il sistema APUD: le piastrine possono essere considerate elementi onnipresenti, multifattoriali e itineranti di un sistema APUD plastico e ubiquitario, con il suo contenuto di serotonina (5-TH) e norepinefrina, acetilcolina ed epinefrina, di MLT, NAT e HIOMT, di deposito e derivati metabolici dell'adenosina (AMP, ADP, ATP). Le piastrine talvolta si comportano come un neurone melatonergico e dopaminergico, serotonergico e adrenergico, secondo le diverse condizioni locali e la natura ergica dei nuclei. Le piastrine possono assorbire e immagazzinare 5-TH; possono anche sintetizzare la MLT poiché anch'esse sono fornite di 5-TH-decarbossilasi [109-110].

Esiste una gran quantità di dati farmacologici che indicano un'ampia affinità funzionale e complementarietà di azione tra le piastrine e i neuroni del sistema serotonergico. Questa funzione delle piastrine, che rilasciano i loro depositi di 5-HT ed espellono materiale dai loro granuli quando vengono attivate da stimoli adeguati è stata considerata molto simile al rilascio di neurotrasmettitori da parte dei neuroni centrali. La reazione di rilascio delle piastrine e il comportamento di secrezione insieme servono come modello per il rilascio dei neuroni centrali serotonergici e adrenergici [111-113].

4.4. L'azione della melatonina sui microtubuli: la MLT esercita la sua funzione antitumorale anche sugli spazi di giunzione (gap junctions) intercellulare che mediano la comunicazione tra cellule adiacenti e sono strettamente collegati ai meccanismi che condizionano la crescita cellulare. Uno studio di Kojma et al. sugli epatociti di ratto ha dimostrato l'induzione da parte della MLT della proteina del gap junction CX32 [114-116].

Anche il processo di polimerizzazione della tubulina può essere uno degli obiettivi intercellulari dell'azione della MLT sulle cellule tumorali. Meléndez et al. hanno dimostrato che concentrazioni fisiologiche di MLT inducono un aumento di microtubuli nelle cellule di neuroblastoma NIE-115, e che questo effetto è dovuto ad un aumento dello stato di polimerizzazione della tubulina [74, 117-119].

5. Melatonina e trattamento dei tumori: prospettive future dopo 30 anni di studi.

Molte persone pensano che nella pratica clinica prima di testare qualcosa sia necessario capirne il funzionamento. Questa è un'idea sbagliata. In medicina l'efficacia di molti degli agenti più importanti fu in realtà scoperta nella pratica clinica molto prima che i loro meccanismi d'azione fossero compresi [120].

La priorità assoluta dell'impiego antitumorale della MLT spetta a Luigi Di Bella che ha ritenuto che l'attività antiblastica della MLT non si limitasse ai suddetti meccanismi d'azione, né alla biochimica di formazione della MLT o degli altri metossindoli della pineale [121-122]; ugualmente è stato messo in evidenza che la MLT può raggiungere il nucleo del megacariocita ed esercitarvi una azione simile a quella della Citocalasina B, sia nell'inibire il processo di endoduplicazione sia nell'aumentare la poliploidia nucleare; ulteriori future ricerche suggeriranno l'importanza pratica dell'uso della Citocalasina B nella cura del cancro e nel suo trattamento preventivo [123-124].

Di Bella ha individuato per la prima volta il ruolo fondamentale, primario della MLT, nel disporre ubiquitariamente gli esteri fosforici dell'AMP, ADP, ATP [62].

Questo concetto è fondamentale per il rapporto e lo stretto nesso con la scuola di pensiero che fa capo a Goldberger, Epstein ed Anfinsen, che ammette anche la possibilità dell'auto-assemblaggio, come la proteina possa riprendere spontaneamente la sua struttura tridimensionale con piena attività biologica (folding proteico) [125].

Potrebbe essere la stessa o un'altra proteina a influenzare le reazioni intermolecolari. Alcune proteine agiscono da chaperons molecolari e idrolizzando l'ATP attivano quel ripiegamento di strutture proteiche altrimenti inerti [126-127]. Il meccanismo d'azione è stato spiegato da Ellis, che ha inquadrato le chaperonine come agenti sequestranti contenenti ripiegate nella Gabbia di Anfinsen le singole strutture proteiche [128-129].

Secondo Luigi Di Bella nella biologia neoplastica l'azione delle chaperonine dovrebbe prevalentemente realizzarsi attraverso l'idrolisi di ATP, ADP, AMP in legame con l'adenosina, oppure in legame d'idrogeno con la MLT [92, 62, 93].

6. Conclusioni.

Nel profondo decadimento culturale odierno, ovattato dalla cultura spicciola dei fatti quotidiani, non sempre il razionale snellimento tecnologico riesce a compensare il carico della progressiva ignoranza. In campo sanitario si può spendere di più perché si eccede in analisi serieriate e costose, quando non dannose; perché si inondano i pazienti di farmaci tecnicamente ed esteticamente perfetti ma inutili, quando non tossici; perché si prolungano degenze costose e oziose.

L'ignoranza della malattia reale e dei rimedi adeguati per curarla è la causa prima dell'errata

assistenza, del malessere del paziente, dell'inadeguatezza dei bilanci.

Il problema cancro potrà essere soddisfacentemente risolto in massima parte solo ottimizzando tutto, eliminando coraggiosamente le irrazionalità del passato, rivolgendosi ad un futuro in cui l'aspetto cancro per i mezzi trovati e correntemente applicati, diverrà una normale evenienza della futura esistenza umana.

Se il medico ricordasse il fondamentale detto "Primum non nocere" rivolto all'ammalato, ma anche e soprattutto al collega, l'arte sanitaria migliorerebbe indubbiamente. Nessuna professione è forse tanto fondata sulla morale, quanto la professione medica. I detti celebri che la raccomandano sono innumerevoli, quanto a volte evasivi ed ingannevoli, basterebbe amare il prossimo, tendere a mutare l'espressione di dolore in lenta immagine di accettabile prognosi, per raggiungere lo scopo. Non è esagerato attendersi il più alto livello morale generale proprio dal medico.

Il desiderio di tramandare, almeno in parte, il pensiero di Luigi Di Bella ha spinto gli AA a pubblicare questa Review. Nella speranza che un giorno il suo sogno diventi realtà. La premessa della sua concezione è considerare il cancro come forma di vita, una vita da lui definita "potente, prepotente, parassitaria, anarchica". E' necessario coniugare un complesso di sostanze che possano agire in modo centripeto sulla cellula neoplastica e che possano incidere, di volta in volta, contemporaneamente ovvero successivamente, sulla miriade di reazioni biologiche che sono responsabili della loro vita. Da qui è venuta non una sostanza, ma un metodo.

Acknowledgements

The authors declare that they have no conflict of interest.

Bibliografia.

1. Macchi MM, Bruce JN. Human pineal physiology and functional significance of melatonin. *Front Neuroendocrinol.* **2004**, 25(3-4): 177-195.
2. Skwarlo-Sonta K. Melatonin in immunity: comparative aspects. *Neuro Endocrinol Lett.* **2002**, 23 Suppl 1:61-66. Review.
3. Reiter RJ, Korkmaz A. Clinical aspects of melatonin. *Saudi Med J.* **2008**, 29(11): 1537-1547. Review.
4. Cos S, Verduga R, Fernandez-Viadero C, Megias M, Crespo D. Effects of melatonin on the proliferation and differentiation of human neuroblastoma cells in culture. *Neurosci Lett.* **1996**, 216(2): 113-116.
5. Blask DE, Wilson ST, Zalatan F. Physiological melatonin inhibition of human breast cancer cell growth in vitro: evidence for glutathione-mediated pathway. *Cancer Research.* **1997**, 57(10): 1909-1914.
6. Bartsch H, Buchberger A, Franz H, Bartsch C, Maidonis I, Mecke D, Bayer E. Effect of melatonin and pineal extracts on human ovarian and mammary tumor cells in a chemosensitivity assay. *Life Sci.* **2000**, 67 (24): 2953-2960.
7. Blask DE, Sauer LA, Dauchy RT. Melatonin as a chronobiotic/anticancer agent: cellular, biochemical, and molecular mechanisms of action and their implications for circadian-based cancer therapy. *Curr Top Med Chem.* **2002**, 2(2): 113-132. Review.
8. Sánchez-Barceló EJ, Cos S, Mediavilla D, Martínez-Campa C, González A, Alonso-González C. Melatonin-estrogen interactions in breast cancer. *J Pineal Res.* **2005**, 38(4):

- 217-222. Review.
9. Watanabe M, Kobayashi Y, Takahashi N, Kiguchi K, Ishizuka B. Expression of melatonin receptor (MT1) and interaction between melatonin and estrogen in endometrial cancer cell line. *J Obstet Gynaecol Res.* **2008**, 34(4): 567-573.
 10. Heldin CH, Westermark B. Platelet-derived growth factor and autocrine mechanisms of oncogenic processes. *Crit Rev Oncog.* **1991**, 2: 109-124.
 11. Lüscher TF, Boulanger CM, Dohi Y, Yang ZH. Endothelium-derived contracting factors. *Hypertension.* **1992**, 19(2): 117-130.
 12. Comoglio PM. Structure, biosynthesis and biochemical properties of the HGF receptor in normal and malignant cells. *EXS.* **1993**, 65: 131-165.
 13. Cos S, Blask DE. Melatonin modulates growth factor activity in MCF-7 human breast cancer cells. *J Pineal Res.* **1994**, 17(1): 25-32.
 14. Boonstra J, Rijken P, Humbel B, Cremers F, Verkleij A, van Bergen en Henegouwen P. The epidermal growth factor. *Cell Biol. Int.* **1995**, 19 (5): 413-430.
 15. Ornitz DM, Itoh N. Fibroblast growth factors. *Genome Biol.* **2001**, 2(3): reviews3005.1-12.
 16. Ferrara N, Gerber HP. The role of vascular endothelial growth factor in angiogenesis. *Acta Haematol.* **2002**, 106(4): 148-156.
 17. Trejo JL, Carro E, Garcia-Galloway E, Torres-Aleman I (2004). Role of insulin-like growth factor I signaling in neurodegenerative diseases. *J. Mol. Med.* **2004**, 82(3): 156-162.
 18. Matt P, Schoenhoff F, Habashi J, Holm T, Van Erp C, Loch D, Carlson OD, Griswold BF, Fu Q, De Backer J, Loeys B, Huso DL, McDonnell NB, Van Eyk JE, Dietz HC. Circulating transforming growth factor- β in Marfan syndrome. *GenTAC Consortium. Circulation.* **2009**, 120(6): 526-532.
 19. Fischer TW, Zmijewski MA, Wortsman J, Slominski A. Melatonin maintains mitochondrial membrane potential and attenuates activation of initiator (casp-9) and effector caspases (casp-3/casp-7) and PARP in UVR-exposed HaCaT keratinocytes. *J Pineal Res.* **2008**, 44(4): 397-407.
 20. Ferreira Cda S, Maganhin CC, Simões Rdos S, Girão MJ, Baracat EC, Soares-Jr JM. [Melatonin: cell death modulator]. *Rev Assoc Med Bras.* **2010**, 56(6):715-718. Review.
 21. Bartsch C, Bartsch H. Significance of melatonin in malignant diseases. *Wiener Klinische Wochenschrift.* **1997**, 109(18): 722-729.
 22. Trubiani O, Recchioni R, Moroni F, Pizzicannella J, Caputi S, Di Primio R. Melatonin provokes cell death in human B-lymphoma cells by mitochondrial-dependent apoptotic pathway activation. *J Pineal Res.* **2005**, 39(4): 425-431.
 23. Bejarano I, Redondo PC, Espino J, Rosado JA, Paredes SD, Barriga C, Reiter RJ, Pariente JA, Rodríguez AB. Melatonin induces mitochondrial-mediated apoptosis in human myeloid HL-60 cells. *J Pineal Res.* **2009**, 46(4): 392-400.
 24. Eck KM, Yuan L, Duffy L, Ram PT, Ayettey S, Chen I, Cohn CS, Reed JC, Hill SM. A sequential treatment regimen with melatonin and all trans retinoic acid induced apoptosis in MCF-7 tumors cells. *Br J Cancer.* **1998**, 77(12): 2129-2137.
 25. Eck-Enriquez K, Kiefer TL, Spriggs LL, Hill SM. Pathways through which a regimen of melatonin and retinoic acid induces apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat.* **2000**, 61(3): 229-239.
 26. Czeczuga-Semeniuk E, Wołczyński S, Anchim T, Dziecioł J, Dabrowska M, Pietruczuk M. Effect of melatonin and all-trans retinoic acid on the proliferation and induction of the apoptotic pathway in the culture of human breast cancer cell line MCF-7. *Pol J Pathol.* **2002**, 53(2): 59-65.

27. Blask DE, Hill SM, Pellettier DB. 'Oncostatic signaling by the pineal gland and melatonin in the control of breast cancer' in *The Pineal Gland and Cancer*, Gupta D, Attanasio A, Reiter RG (eds.), Brain Research Promotion, Tubingen, **1988**, pp. 1995.
28. Panzer A, Viljoen M. The validity of melatonin as an oncostatic agent. *J Pineal Res.* **1997**, 22(4): 184-202.
29. Pawlikowski M, Kunert-Radek J, Winczyk K, Melen-Mucha G, Gruszka A, Karasek M. The antiproliferative effects of melatonin on experimental pituitary and colonic tumors. Possible involvement of the putative nuclear binding site? *Adv Exp Med Biol.* **1999**, 460: 369-372.
30. Di Bella L. Melatonin: an essential factor for the treatment and recovery from leukemia and cancer. International Symposium on Melatonin, **1980**, N. Birau & W. Schloot (Eds.), pp. 101-102.
31. Lissoni P, Barni S, Cattaneo G, Tancini G, Esposti G, Esposti D, Frascini F. Clinical result with the pineal hormone melatonin in advanced cancer resistant to standard antitumor therapies. *Oncology.* **1991**, 48(6): 48-50.
32. Bubenik GA, Blask DE, Brown GM, Maestroni GJ, Pang SF, Reiter RJ, Viswanathan M, Zisapel N. Prospects of the clinical utilization of melatonin. *Biol Signals Recept.* **1998**, 7(4): 195-219.
33. Di Bella G. The Di Bella Method (DBM). *Neuro Endocrinol Lett.* **2010**, 31 Suppl 1: 1-42.
34. Persengiev SP, Kyurkchiev S. Selective effect of melatonin on the proliferation of lymphoid cells. *Int J Biochem.* **1993**, 25(3): 441-444.
35. Neri B, Fiorelli C, Moroni F, Nicita G, Paoletti MC, Ponchietti R, Raugeri A, Santoni G, Trippitelli A, Grechi G. Modulation of human lymphoblastoid interferon activity by melatonin in metastatic renal cell carcinoma. A phase II study. *Cancer.* **1994**, 73(12): 3015-3019.
36. El-Missiry MA, Abd El-Aziz AF. Influence of melatonin on proliferation and antioxidant system in Ehrlich ascites carcinoma cells. *Cancer Lett.* **2000**, 151(2): 119-125.
37. Lissoni P, Barni S, Mandala M, Ardizzoia A, Paolorossi F, Vaghi M, Longarini R, Malugani F, Tancini G. Decreased toxicity and increased efficacy of cancer chemotherapy using the pineal hormone melatonin in metastatic solid tumor patients with poor clinical status. *European Journal of Cancer.* **1999**, 35(12): 1688-1692.
38. Mediavilla MD, Cos S, Sanchez-Barcelo EJ. Melatonin increases p53 and p21WAF1 expression in MCF-7 human breast cancer cells in vitro. *Life Sciences.* **1999**, 65(4): 415-420.
39. Melen-Mucha G, Winczyk K, Pawlikowski M. Somatostatin analogue octreotide and melatonin inhibit bromodeoxyuridine incorporation into cell nuclei and enhance apoptosis in the transplantable murine colon 38 cancer. *Anticancer Res.* **1998**, 18(5A): 3615-3619.
40. Mediavilla MD, Güezmez A, Ramos S, Kothari L, Garijo F, Sánchez Barceló EJ. Effects of melatonin on mammary gland lesions in transgenic mice overexpressing N-ras proto-oncogene. *J Pineal Res.* **1997**, 22(2): 86-94.
41. Haus E, Dumitriu L, Nicolau GY, Bologa S, Sackett-Lundeen L. Circadian rhythms of basic fibroblast growth factor (bFGF), epidermal growth factor (EGF), insulin-like growth factor-1 (IGF-1), insulin-like growth factor binding protein-3 (IGFBP-3), cortisol, and melatonin in women with breast cancer. *Chronobiol Int.* **2001**, 18(4): 709-727.
42. Luchetti F, Betti M, Canonico B, Arcangeletti M, Ferri P, Galli F, Papa S. ERK MAPK activation mediates the antiapoptotic signaling of melatonin in UVB-stressed U937 cells. *Free Radic Biol Med.* **2009**, 46(3): 339-351.
43. Silverman AL, Bronstein JC, Krymgold S, Kahlon D, Bull AW. Decreased levels of 13-

- hydroxyoctadecadienoic acid (13-HODE) dehydrogenase in neoplastic tissue of human colon biopsies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* **1996**, 5(1): 53-56.
44. Hill SM, Blask DE, Xiang S, Yuan L, Mao L, Dauchy RT, Dauchy EM, Frasch T, Duplessis T. Melatonin and associated signaling pathways that control normal breast epithelium and breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* **2011**, 16(3): 235-245.
 45. Lissoni P, Rovelli F, Malugani F, Bucovec R, Conti A, Maestroni GJ. Anti-angiogenic activity of melatonin in advanced cancer patients. *Neuro Endocrinol Lett.* **2001**, 22(1): 45-47.
 46. Soybir G, Topuzlu C, Odabaş O, Dolay K, Bilişir A, Köksoy F. The Effects of Melatonin on Angiogenesis and Wound Healing. *Surg Today.* **2003**, 33(12): 896-901.
 47. Park SY, Jang WJ, Yi EY, Jang JY, Jung Y, Jeong JW, Kim YJ. Melatonin suppresses tumor angiogenesis by inhibiting HIF-1 α stabilization under hypoxia. *J Pineal Res.* **2010**, 48(2): 178-184.
 48. 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.* **2012**, Jul 17. [Epub ahead of print]
 49. Benot S, Gobema R, Reiter RJ, García-Mauriño S, Osuna C, Guerrero JM. Physiological levels of melatonin contribute to the antioxidant capacity of human serum. *J Pineal Res.* **1999**, 27(1): 59-64.
 50. Karbownik M. Potential anticarcinogenic action of melatonin and other antioxidants mediated by antioxidative mechanisms. *Neuro Endocrinol Lett.* **2002**, Suppl 1: 39-44. Review.
 51. Vijayalaxmi, Reiter RJ, Tan DX, Herman TS, Thomas CR Jr. Melatonin as a radioprotective agent: a review. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* **2004**, 59(3): 639-653. Review.
 52. Kadoma Y, Fujisawa S. Radical-scavenging activity of melatonin, either alone or in combination with vitamin E, ascorbate or 2-mercaptoethanol as co-antioxidants, using the induction period method. *In Vivo.* **2011**, 25(1): 49-53.
 53. Galano A. On the direct scavenging activity of melatonin towards hydroxyl and a series of peroxy radicals. *Phys Chem Chem Phys.* **2011**, 13(15): 7178-7188.
 54. Anwar MM, Mahfouz HA, Sayed AS. Potential protective effects of melatonin on bone marrow of rats exposed to cytotoxic drugs. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* **1998**, 119(2): 493-501.
 55. Rapozzi V, Zorzet S, Comelli M, Mavelli I, Perissin L, Giraldi T. Melatonin decreases bone marrow and lymphatic toxicity of adriamycin in mice bearing TLX5 lymphoma. *Life Sci.* **1998**, 63(19): 1701-1713.
 56. Lissoni P, Bastone A, Sala R, Mauri R, Rovelli F, Viviani S, Bajetta E, Esposti D, Esposti G, Di Bella L, et al. The clinical significance of melatonin serum determination in oncological patients and its correlations with GH and PRL blood levels. *Eur J Cancer Clin Oncol.* **1987**, 23(7): 949-957.
 57. Di Bella L, Rossi MT, Pellegrino N, Grimaldi A, Santoro V. Ruolo del sistema abenulo-epifisario nella regolazione del tasso-piastrinemico. *Boll Soc It Biol Sper.* **1969**, 45: 171.
 58. Rossi MT, Scalera G, Di Bella L. Azione mielotropa della melatonina (MLT). *Boll Soc It Biol Sper.* **1976**, 52: 26.
 59. Rossi MT, Di Bella L. Melatonin in thrombocytogenesis. In Gupta D et al., editors. The pineal gland and cancer. Brain Research Promotion; **1988**, pp. 183-194.
 60. Gualano L, Di Bella L, Rossi MT, Scalera G. Effetti della melatonina sui megacariociti viventi di midollo di ratto. *Boll Soc It Biol Sper.* **1977**, 53: 44.

61. Cardinali DP, Del Zar MM, Vacas MI. The effects of melatonin in human platelets. *Acta Physiol Pharmacol Ther Latinoam.* **1993**, 43(1-2): 1-13.
62. Di Bella L, Bucciarelli M, Pagnoni UM, Scalera G, Rossi MT. Formazione di complessi tra melatonina (mlt) e basi puriniche e pirimidiniche. *Boll Soc It Biol Sper.* **1976**, 52: 157.
63. Rossi MT, Di Bella L, Scalera G, Gualano L. Platelet turnover as influenced by melatonin. *Int Symp on Melatonin*, Bremen, Germany, **1980**, Sept. 28-30.
64. Jeffrey GA, Saenger W. 'Hydrogen Bonding in Biological Structures', sprinter Verlag, Berlin **1991**, p. 569.
65. Carrillo-Vico A, Calvo JR, Abreu P, Lardone PJ, García-Mauriño S, Reiter RJ, Guerrero JM. Evidence of melatonin synthesis by human lymphocytes and its physiological significance: possible role as intracrine, autocrine, and/or paracrine substance. *FASEB J.* **2004**, 18(3): 537-539.
66. Hill SM, Spriggs LL, Simon MA, Muraoka H, Blask DE. The growth inhibitory action of melatonin on human breast cancer cells is linked to the estrogen response system. *Cancer Lett.* **1992**, 64(3): 249-256.
67. Gonzalez-Haba MG, Garcia-Mauriño S, Calvo JR, Goberna R, Guerrero JM. High-affinity binding of melatonin by human circulating T lymphocytes (CD4+). *FASEB J.* **1995**, 9(13): 1331-1335.
68. García-Pergañeda A, Pozo D, Guerrero JM, Calvo JR. Signal transduction for melatonin in human lymphocytes: involvement of a pertussis toxin-sensitive G protein. *J Immunol.* **1997**, 159(8): 3774-3781.
69. Konakchieva R, Kyurkchiev S, Kehayov I, Taushanova P, Kanchev L. Selective effect of methoxyindoles on the lymphocyte proliferation and melatonin binding to activated human lymphoid cells. *J Neuroimmunol.* **1995**, 63(2): 125-132.
70. Garcia-Mauriño S, Gonzalez-Haba MG, Calvo JR, Rafii-El-Idrissi M, Sanchez-Margalet V, Goberna R, Guerrero JM. Melatonin enhances IL-2, IL-6, and IFN-gamma production by human circulating CD4+ cells: a possible nuclear receptor-mediated mechanism involving T helper type 1 lymphocytes and monocytes. *J Immunol.* **1997**, 159(2): 574-581.
71. Lissoni P, Rovelli F, Brivio F, Brivio O, Fumagalli L. Circadian secretions of IL-2, IL-12, IL-6 and IL-10 in relation to the light/dark rhythm of the pineal hormone melatonin in healthy humans. *Nat Immun.* **1998**, 16(1): 1-5.
72. García-Mauriño S, Pozo D, Carrillo-Vico A, Calvo JR, Guerrero JM. Melatonin activates Th1 lymphocytes by increasing IL-12 production. *Life Sci.* **1999**, 65(20): 2143-2150.
73. Lissoni P, Bolis S, Brivio F, Fumagalli L. A phase II study of neuroimmunotherapy with subcutaneous low-dose IL-2 plus the pineal hormone melatonin inuntreatable advanced hematologic malignancies. *Anticancer Res.* **2000**, 20(3B): 2103-2105.
74. Benítez-King G, Antón-Tay F. Calmodulin mediates melatonin cytoskeletal effects. *Experientia.* **1993**, 49(8): 635-641. Review.
75. Soto-Vega E, Meza I, Ramírez-Rodríguez G, Benitez-King G. Melatonin stimulates calmodulin phosphorylation by protein kinase C. *J Pineal Res.* **2004**, 37(2): 98-106.
76. Tan DX, Reiter RJ, Manchester LC, Yan MT, El-Sawi M, Sainz RM, Mayo JC, Kohen R, Allegra M, Hardeland R. Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger. *Curr Top Med Chem.* **2002**, 2(2): 181-197. Review.
77. Naji L, Carrillo-Vico A, Guerrero JM, Calvo JR. Expression of membrane and nuclear melatonin receptors in mouse peripheral organs. *Life Sci.* **2004**, 74(18): 2227-2236.
78. Girgert R, Hanf V, Emons G, Gründker C. Membrane-bound melatonin receptor MT1 down-

- regulates estrogen responsive genes in breast cancer cells. *J Pineal Res.* **2009**, *47*(1): 23-31.
79. Lopez-Gonzalez MA, Calvo JR, Osuna C, Rubio A, Guerrero JM. Synergistic action of melatonin and vasoactive intestinal peptide in stimulating cyclic AMP production in human lymphocytes. *J Pineal Res.* **1992**, *12*(4): 174-180.
 80. Vacas MI, Del Zar MM, Martinuzzo M, Cardinali DP. Binding sites for [3H]-melatonin in human platelets. *J Pineal Res.* **1992**, *13*(2): 60-65.
 81. Calvo JR, Rafii-el-Idrissi M, Pozo D, Guerrero JM. Immunomodulatory role of melatonin: specific binding sites in human and rodent lymphoid cells. *J Pineal Res.* **1995**, *18*(3): 119-126. Review.
 82. Mangelsdorf, D. J. and Evans, R. M. The RXR heterodimers and orphan receptors. *Cell.* **1995**, *83*: 841-850.
 83. Wiesenberg I, Missbach M, Kahlen JP, Schröder M, Carlberg C. Transcriptional activation of the nuclear receptor RZR alpha by the pineal gland hormone melatonin and identification of CGP 52608 as a synthetic ligand. *Nucleic Acids Res.* **1995**, *23*(3): 327-233.
 84. Renaud, J.P., N. Rochel, M. Ruff, V. Vivat, P. Chambon, H. Gronemeyer, and D. Moras. Crystal structure of the RAR-gamma ligand-binding domain bound to all-trans retinoic acid. *Nature.* **1995**, *378*(6558): 681-689.
 85. Yu XP, Mocharla H, Hustmyer FG, Manolagas SC. Vitamin D receptor expression in human lymphocytes. Signal requirements and characterization by western blots and DNA sequencing. *J Biol Chem.* **1991**, *266*(12): 7588-7595.
 86. Adorini L, Daniel KC, Penna G. Vitamin D receptor agonists, cancer and the immune system: an intricate relationship. *Curr Top Med Chem.* **2006**, *6*(12): 1297-1301.
 87. Morgan PJ, Barrett P, Howell HE, Helliwell R. Melatonin receptors: localization, molecular pharmacology and physiological significance. *Neurochem Int.* **1994**, *24*(2): 101-146.
 88. Mazzucchelli C, Pannacci M, Nonno R, Lucini V, Fraschini F, Stankov BM. The melatonin receptor in the human brain: cloning experiments and distribution studies. *Brain Res Mol Brain Res.* **1996**, *39*: 117-126.
 89. Weaver DR, Reppert SM. The Mel1a melatonin receptor gene is expressed in human suprachiasmatic nuclei. *Neuroreport.* **1996**, *8*: 109-112.
 90. Al-Ghoul WM, Herman MD, Dubocovich ML. Melatonin receptor subtype expression in human cerebellum. *Neuroreport.* **1998**, *9*: 4063-4068.
 91. Dubocovich ML, Markowska M. (2005) Functional MT1 and MT2 melatonin receptors in mammals. *Endocrine.* **2005**, *27*: 101-110.
 92. Di Bella L. Orientamenti fisiologici nella terapia delle emopatie. *Bull Sc Med.* **1974**, *145*:1-3.
 93. Di Bella L, Rossi MT, Scalera G. Perspectives in Pineal Function. *Prog Brain Res.* **1979**, *52*: 475-478.
 94. Kornblihtt LI, Finocchiaro L, Molinas FC. Inhibitory effect of melatonin on platelet activation induced by collagen and arachidonic acid. *J Pineal Res.* **1993**, *14*(4): 184-191.
 95. Garcia-Perganeda A, Guerriero JM, Rafii-El-Idrissi M, Paz Romero M, Pozo D, Calvo JR. Characterization of membrane melatonin receptor in mouse peritoneal macrophages: inhibition of adenylyl cyclase by a pertussis toxin-sensitive G protein. *J Neuroimmunol.* **1999**, *95*(1-2): 85-94.
 96. Di Bella L, Bruschi C, Gualano L. Melatonin effects on megakaryocyte membrane patch-clamp outward K⁺ current. *Med Sci Monit.* **2002**, *8*(12): BR527-531.
 97. Steffens F, Zhou XB, Sausbier U, Sailer C, Motejlek K, Ruth P, Olcese J, Korth M, Wieland T. Melatonin receptor signaling in pregnant and nonpregnant rat uterine myocytes as probed

- by large conductance Ca²⁺-activated K⁺ channel activity. *Mol Endocrinol.* **2003**, *17*(10): 2103–2115.
98. Hou SW, Zheng P, Sun FY. Melatonin inhibits outward delayed rectifier potassium currents in hippocampal CA1 pyramidal neuron via intracellular indole-related domains. *J Pineal Res.* **2004**, *36*(4): 242–249.
 99. Sampson SR, Lupowitz Z, Braiman L, Zisapel N. Role of protein kinase C- α in melatonin signal transduction. *Mol Cell Endocrinol.* **2006**, *252*(1-2): 82-87.
 100. Martín V, Herrera F, García-Santos G, Antolín I, Rodríguez-Blanco J, Medina M, Rodríguez C. Involvement of protein kinase C in melatonin's oncostatic effect in C6 glioma cells. *J Pineal Res.* **2007**, *43*(3): 239-244.
 101. Kvetnoi IM, Raikhlin NT. Clinical pathology of the APUD system (apudopathy). *Klin Med (Mosk).* **1978**, *56*(11): 15–22.
 102. Polak J.M. and Bloom S.R. The Diffuse Neuroendocrine System. Studies of this newly discovered controlling system in health. *J Histochem Cytochem.* **1979**, *27*(10):1398-1400.
 103. Raikhlin NT, Kvetnoi IM. APUD system and neuroendocrine tumors (“apudomas”). *Arkh Patol.* **1997**, *39*(5): 74–80.
 104. Maluf HM, Koerner FC. Carcinomas of the breast with endocrine differentiation: a review, 1994, *Virchows Arch.* **1994**, *425*(5): 449-457.
 105. Bonkhoff H, Stein U, Remberger K. Endocrine-paracrine cell types in the prostate and prostatic adenocarcinoma are postmitotic cells. *Hum Pathol.* **1995**, *26*: 167-170.
 106. Raikhlin NT, Kvetnoi IM. The APUD system (diffuse endocrine system) in normal and pathological states. 1994, *Physiol Gen Biol Rev.* **1994**, *8*: 1-44.
 107. Sanchez-Barcelo EJ, Mediavilla MD, Tucker HA. Influence of melatonin on mammary gland growth: in vivo and in vitro studies. *Proc Soc Exp Biol Med.* **1990**, *194*(2):103-107.
 108. Maestroni GJ, Conti A. Melatonin in human breast cancer tissue: association with nuclear grade and estrogen receptor status. *Lab Invest.* **1996**, *75*(4): 557-561.
 109. Del Zar MM, Martinuzzo M, Cardinali DP, Carreras LO, Vacas MI. Diurnal variation in melatonin effect on adenosine triphosphate and serotonin release by human platelets. *Acta Endocrinol (Copenh).* **1990**, *123*(4): 453-458.
 110. Champier J, Claustrat B, Besançon R, Eymin C, Killer C, Jouvet A, Chamba G, Fèvre-Montange M. Evidence for tryptophan hydroxylase and hydroxy-indol-O-methyltransferase mRNAs in human blood platelets. *Life Sci.* **1997**, *60*(24): 2191-2197.
 111. Zucker MB, Borrelli J. Quantity, assay and release of serotonin in human platelets. *J Appl Physiol.* **1955**, *7*(4): 425–431.
 112. Marmaras VJ, Mimikos N. Enzymic formation of serotonin in mammalian blood platelets and red cells. *Experientia.* **1971**, *27*(2): 196–197.
 113. Martín FJ, Atienza G, Aldegunde M, Míguez JM. Melatonin effect on serotonin uptake and release in rat platelets: diurnal variation in responsiveness. *Life Sci.* **1993**, *53*(13): 1079-1087.
 114. Ubeda A, Trillo MA, House DE, Blackman CF. A 50 Hz magnetic field blocks melatonin-induced enhancement of junctional transfer in normal C3H/10T1/2 cells. *Carcinogenesis.* **1995**, *16*(12): 2945-2949.
 115. Kojima T, Mochizuki C, Mitaka T, Mochizuki Y. Effects of melatonin on proliferation, oxidative stress and Cx32 gap junction protein expression in primary cultures of adult rat hepatocytes. *Cell Struct Funct.* **1997**, *22*(3): 347-356.
 116. Cos S, Fernandez R. Melatonin effects on intercellular junctional communication in MCF-7 human breast cancer cells. *J Pineal Res* **2000**, *29*(3): 166-171.

117. Meléndez J, Maldonado V, Ortega A. Effect of melatonin on beta-tubulin and MAP2 expression in N1E-115 cells. *Neurochem Res.* **1996**, *21*(6): 653-658.
118. Benitez-King G, Túnez I, Bellon A, Ortíz GG, Antón-Tay F. Melatonin prevents cytoskeletal alterations and oxidative stress induced by okadaic acid in N1E-115 cells. *Exp Neurol.* **2003**, *182*(1): 151-159.
119. Jarzynka MJ, Passey DK, Ignatius PF, Melan MA, Radio NM, Jockers R, Rasenick MM, Brydon L, Witt-Enderby PA. Modulation of melatonin receptors and G-protein function by microtubules. *J Pineal Res.* **2006**, *41*(4): 324-436.
120. Wald NJ. Retinoids, differentiation and diseases. *Ciba Foundation Symposium* **1985**, *113*: 268, London, Pitman.
121. Di Bella L. Physiological basis for a rational therapy of bone marrow diseases. *XVIth Intem. Congr. of Hematology*, Kyoto, **1976**, Sept 5-11.
122. Mediavilla MD, Sanchez-Barcelo EJ, Tan DX, Manchester L, Reiter RJ. Basic mechanisms involved in the anti-cancer effects of melatonin. *Curr Med Chem.* **2010**, *17*(36): 4462-4481. Review.
123. Godman GC, Miranda AF. Cellular contractility and the visible effects of cytochalasins. In Tanenbaum, editor. *Cytochalasins, Biochemical and cell biological aspects*. Amsterdam: North Holland Publishing Company; **1978**. pp. 279–429.
124. Di Bella L, Gualano L, Bruschi C, Minuscoli S, Tarozzi G. Cytochalasin B influence on megakaryocyte patch-clamp. *Adv Exp Med Biol.* **1999**, *460*: 373–376.
125. Goldberger RF, Epstein CJ, Anfinsen CB. Purification and properties of a microsomal enzyme system catalyzing the reactivation of reduced ribonuclease and lysozyme. *J Biol Chem.* **1964**, *239*: 1406-1410.
126. Anfinsen CB, Redfield RR. Protein structure in relation to function and biosynthesis. *Adv Protein Chem.* **1956**, *11*: 1-100.
127. Anfinsen CB. The tertiary structure of ribonuclease. *Brookhaven Symp Biol.* **1962**, *15*: 184-198.
128. Ellis RJ. Chaperonins. *Curr Biol.* **1999**, *9*(10): R352.
129. Ellis RJ. Protein folding: importance of the Anfinsen cage. *Curr Biol.* **2003**, *13*(22): R881-883.

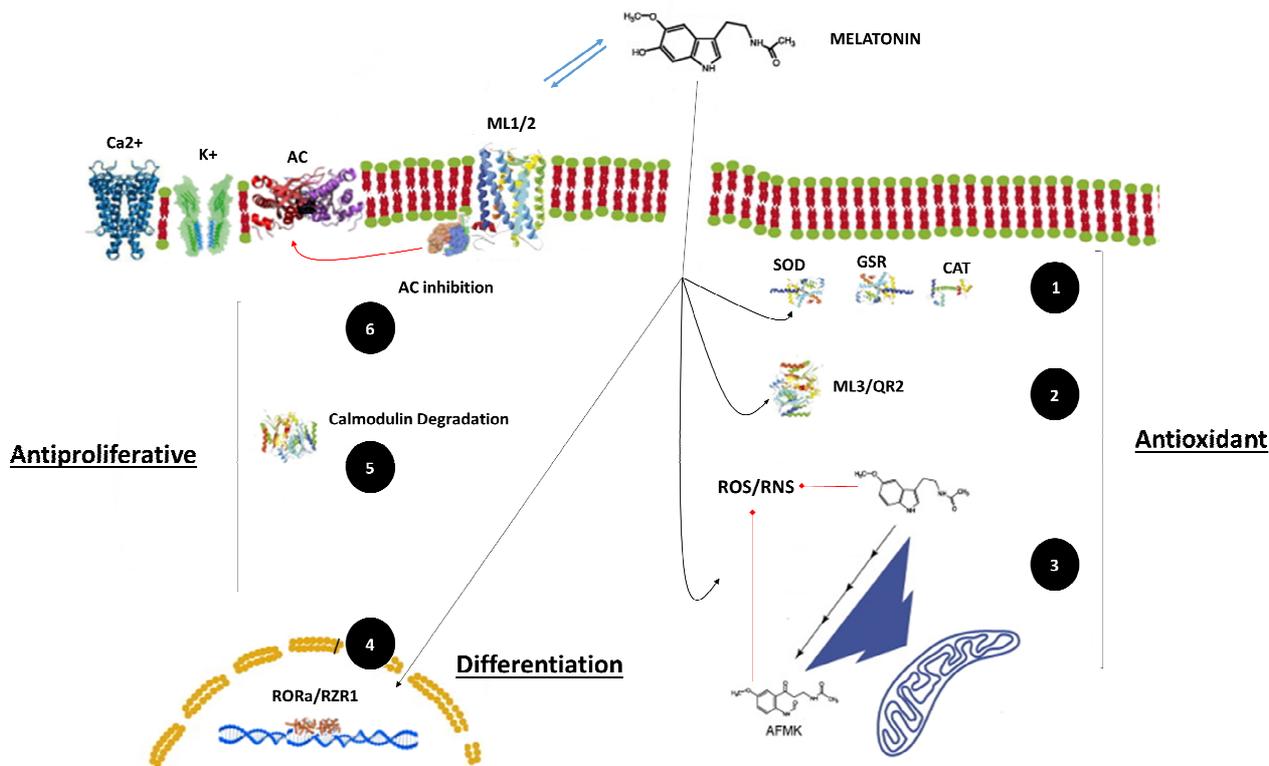


Fig.1 Azione antitumorale della melatonina. Principali meccanismi molecolari:

- 1: Direct Anti-oxidant enzyme activation
- 2: Bind with ML3 receptor;
- 3: Direct antioxidant activity (*scavenger*)
- 4: Gene Expression Regulation (Differentiation)
- 5: Calmodulin degradation: antiproliferative
- 6: AC inhibition: Antiproliferative

ML1/2: Melatonin type receptor 1-2; SOD: super oxide dismutase; GRS: Glutathione Reductase; CAT: Catalase; ML3/QR3: Melatonin type receptor 3 / Quinone Reductase 2; AC: adenylate ciclase; ROS: Oxygen reactive species; RNS: natrium reactive species; AFMK: N(1)-acetyl-N(2)-f+ormyl-5-methoxykynuramine

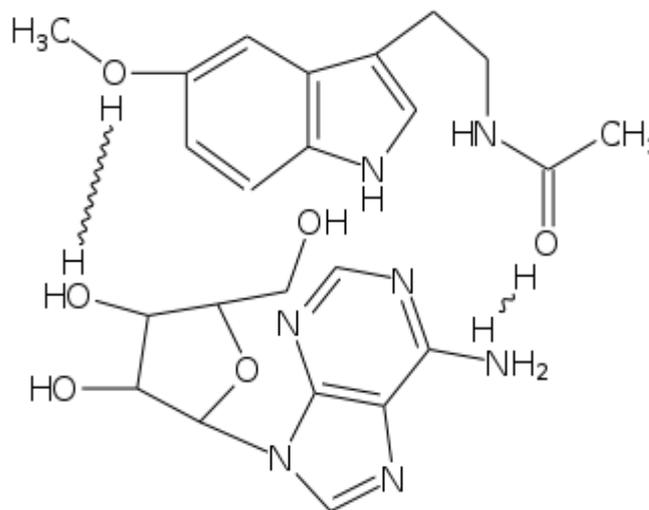


Figura 1. La MLT insolubile in acqua, si scioglie in alcol etilico. Essendo l'assorbimento e la bio-disponibilità legati alla solubilità, nella formulazione di Luigi Di Bella è unita con un legame di idrogeno all'Adenosina, divenendo così perfettamente solubile, assimilabile e potenziata nelle sue attività biologico-funzionali.