

ROLA MELATONINY W NOWOTWORACH GRUCZOŁU PIERSIOWEGO, JAJNIKA ORAZ ENDOMETRIUM*

THE ROLE OF MELATONIN IN BREAST, OVARIAN
AND ENDOMETRIAL CANCERS

Karolina JABŁOŃSKA¹, Agata ZEMŁA¹, Piotr DZIĘGIEL^{1,2}

¹Katedra i Zakład Histologii i Embriologii Akademii Medycznej im. Piastów Śląskich,
Wrocław; ²Katedra i Zakład Histologii i Embriologii Uniwersytetu Medycznego
im. Karola Marcinkowskiego, Poznań

Streszczenie: Estrogeny odgrywają znaczącą rolę w etiologii ludzkich nowotworów gruczołu piersiowego, jajnika oraz endometrium. Aktywacja receptorów estrogenowych przyczynia się do rozwoju i tworzenia się przerzutów tych powszechnie występujących u kobiet nowotworów. Ostatnie doniesienia wskazują, iż melatonina, główny hormon syntetyzowany przez szyszynkę, jest zaangażowana w regulację wzrostu komórek nowotworowych. Onkostatyczne właściwości tej cząsteczki badano w nowotworach różnego typu, a zwłaszcza w hormonozależnym raku gruczołu piersiowego. Powszechnie przyjęto, iż melatonina *in vivo* redukuje częstotliwość występowania oraz aktywność wzrostu guza, a także hamuje proliferację i inwazyjność komórek nowotworowych *in vitro*. Aktualne strategie terapeutyczne traktują estrogeny jako element docelowy oraz rozważają możliwość wykorzystania melatoniny jako substancji antyestrogenowej. Interakcje tej indolowej pochodnej z drogami sygnałnymi estrogenów można wyjaśnić wskazując kilka mechanizmów. Melatonina może działać: a) pośrednio przez negatywną regulację osi podwzórce-przysadka-gonady, prowadząc do obniżenia poziomu krążących estrogenów gonadalnych oraz b) bezpośrednio jako selektywny modulator receptorów estrogenowych SERM (ang. *Selective Estrogen Receptor Modulator*) lub jako selektywny modulator enzymów metabolizmu estrogenów SEEM (ang. *Selective Estrogen Enzyme Modulator*). Zarówno pośrednie, jak i bezpośrednie oddziaływanie melatoniny i estrogenów sugeruje, iż melatonina może być substancją wykorzystywaną w profilaktyce oraz leczeniu nowotworów hormonozależnych.

Słowa kluczowe: melatonina, receptory melatoninowe, estrogen, receptory estrogenowe, aromataza, nowotwory estrogenozależne, rak gruczołu piersiowego, rak jajnika, rak endometrium.

Summary: Estrogens plays an essential role in the etiology of human breast, ovarian and endometrial carcinoma. Activation of estrogen receptors contributes to the growth and metastasis of these common estrogen-dependent tumors found in women. Recent studies reveal that melatonin, main hormone secreted

*Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2008–2011 jako projekt badawczy NR NN4012169.

by pineal gland, has been involved in the regulation of cancer cells growth. The oncostatic properties of this molecule has been considered on different kinds of tumors but especially on hormone – dependent breast cancer. There is general agreement that *in vivo* melatonin reduces the incidence and the activity of growth rate of tumor and inhibits the proliferation and invasiveness of cancer cells *in vitro*. The actual anticancer therapeutic strategy treats estrogens as a target and considered possibility of using melatonin as an antiestrogenic drug. The interaction of this indolamine with estrogen-signaling pathways could be explained through several mechanisms. Melatonin may act: a) indirect by down-regulation hypothalamic-pituitary-reproductive axis leading to decrease level of circulating gonadal estrogens or b) behaving as selective estrogen receptor modulator (SERM) and as a selective estrogen enzyme modulator (SEEM). Either indirectly or directly melatonin and estrogen interaction suggest that melatonin may be useful drug in the prevention and treatment hormone-dependent cancers.

Key words: melatonin, melatonin receptors, estrogen, estrogen receptors, aromatase, estrogen-dependent cancers, breast cancer, ovary cancer, endometrial cancer.

Wykaz skrótów: **AKT** (*protein kinase B, PKB*) – kinaza białkowa B; **cAMP** (*adenosine 3',5'-cyclic monophosphate*) – 3'-5'-cykliczny adenozymonofosforan; **COX** (*cyclooxygenase*) – cyklooksigenaza; **CRE** (*cAMP response elements*) – element odpowiedzi na cAMP; **CREB** (*cAMP response element-binding*) – czynnik transkrypcyjny wiążący miejsca na DNA zależne od poziomu cAMP; **DMBA** (*dimethylbenz[*a*]anthracene*) – dimetylobenzenoantracen; **EGFR** (*epidermal growth factor receptor*) – receptor nabłonkowego czynnika wzrostu; **ER** (*estrogen receptor*) – receptor estrogenowy; **ERE** (*estrogen response element*) – element odpowiedzi na estrogen; **EST** (*estrogen sulfotransferase*) – sulfotransferaza estrogenowa; **FSH** (*follicle stimulating hormone*) – hormon folikulotropowy; **GC** (*granulosa cells*) – komórki warstwy ziarnistej jajnika; **GnRH** (*gonadotropin-releasing hormone*) – hormon uwalniający gonadotropinę; **GnRHR** (*gonadotropin-releasing hormone receptor*) – receptor hormonu uwalniającego gonadotropinę; **GPCR** (*G-protein coupled receptor*) – nadrodzina receptorów sprzężonych z białkami G; **17 β -HSD** (*17 β -hydroxysteroid dehydrogenase*) – dehydrogenaza 17 β -hydroksysteroidowa; **IGFRI** (*insulin-like growth factor receptor*) – receptor insulinopodobnego czynnika wzrostu; **LH** (*luteinising hormone*) – hormon luteinizujący, lutropina; **MAPK** (*mitogen-activated protein kinases*) – kinazy aktywowane mitogenem; **MT1, MT2** (*melatonin receptors*) – receptory melatoninowe; **NHZ** – nowotwory hormonozależne; **PGE2** (*prostaglandin E2*) – prostaglandyna E2; **PKA** (*protein kinase A*) – kinaza białkowa A; **PKC** (*protein kinase C*) – kinaza białkowa C; **ROR/RZR** (*retinoid orphan receptors/retinoid Z receptors*) – sieroce retinoidowe receptory jądrowe; **SEEM** (*selective estrogen enzyme modulator*) – selektywny modulator enzymów metabolizmu estrogenów; **SERM** (*selective estrogen receptor modulator*) – selektywny modulator receptorów estrogenowych; **STS** (*sulfatase*) – sulfataza; **TGF α** (*transforming growth factor α*) – transformujący czynnik wzrostu; **VEGF** (*vascular endothelial growth factor*) – czynnik wzrostu śródbłonna naczyńowego.

1. WSTĘP

W świetle współczesnej wiedzy sprawą oczywistą jest fakt, iż zaburzenia gospodarki hormonów płciowych pociągają za sobą szereg niekorzystnych zjawisk zdrowotnych. Zachwiana regulacja poziomu estrogenów jest przyczyną wielu chorób metabolicznych. Co więcej, istnieje grupa nowotworów, w których endogenne estrogeny odgrywają znaczącą rolę na różnych etapach procesu nowotworzenia [58]. Do grupy nowotworów hormonozależnych (NHZ) indukowanych przez hormony steroidowe należą przede wszystkim rak gruczołu piersiowego, jajnika oraz endometrium [1]. Endogenne, jak i egzogenne estrogeny oddziałując z receptorami ER α , ER β aktywują transkrypcję genów związanych z kontrolą wzrostu komórki [47, 52]. Proporcje ekspresji obu izoform receptorów estrogenowych stanowią jedno z głów-

nych kryteriów biologicznej różnorodności postaci nowotworu, jednakże molekularny mechanizm stojący u podstaw estrogenozależności komórek pozostaje nadal otwartą kwestią [47, 52]. Wyniki badań *in vitro* oraz *in vivo* pozwalają przypuszczać, iż droga sygnałowa estrogenów może stanowić jeden z najważniejszych celów terapii antynowotworowej [21]. Szereg publikacji wskazuje na prawdopodobne antyestrogenowe właściwości melatoniny i możliwość wykorzystania tego hormonu jako substancji hamującej proliferacyjne i inwazyjne predyspozycje komórek nowotworowych zależnych od hormonów [3, 20, 40]. W dostępnej literaturze przedstawia się kilka potencjalnych mechanizmów antynowotworowego funkcjonowania tej cząsteczki, wynikających z jej właściwości jako indolowej pochodnej [20]. Melatonina może działać na gospodarkę estrogenową pośrednio, poprzez wpływ na oś podwzgórze-przysadka-gonady lub bezpośrednio przez modelowanie funkcjonowania receptorów estrogenowych SERM (ang. *Selective Estrogen Receptor Modulator*) oraz regulując aktywność enzymów na szlaku syntezy estrogenów SEEM (ang. *Selective Estrogen Enzyme Modulator*) [20]. W każdej z przedstawionych dróg działania „hormonu ciemności” (melatoniny) istnieją dowody wskazujące na wzajemne zależności szlaków sygnałowych melatoniny i estrogenów w nowotworach estrogenozależnych [3, 20, 40]. W obecnym artykule postaramy się zebrać, uporządkować i przybliżyć czytelnikom dotychczasowe wiadomości wyjaśniające rolę melatoniny i jej wzajemne relacje z estrogenami w procesie genetyki raka gruczołu piersiowego, jajnika oraz endometrium.

2. MELATONINA – WIELOFUNKCYJNY „HORMON CIEMNOŚCI”

Melatonina (5-metoksy-N-acetylotryptamina) jest aktywną biologicznie substancją syntetyzowaną w pinealocytach szyszynki – małego gruczołu leżącego w nadwzgórze [53]. Zakres fizjologicznych funkcji pełnionych przez ten neurohormon jest niezwykle szeroki, a „plejotropizm” jest pojęciem trafnie określającym naturę działania tej cząsteczki. Sekrecja melatoniny jest zsynchronizowana z cyklem światło/ciemność, osiąga maksymalne wartości wydzielania pomiędzy godziną 2 a 4 i stopniowo obniża się w drugiej połowie nocy [25, 53]. Prekursorem dla syntezy melatoniny jest tryptofan pobierany z krwi. Metabolizm owego hormonu zachodzi głównie w wątrobie [53].

Dostępne publikacje różnorodnie wyjaśniają fizjologiczne działanie melatoniny. Jednym z najczęściej przedstawianych mechanizmów jest bezpośrednie oddziaływanie tego hormonu z błonowymi receptorami melatoninowymi. U ssaków zidentyfikowano dwa główne podtypy receptorów błonowych związanych z białkami G: receptory MT1 oraz MT2. Charakteryzują się one dużym powinowactwem i wiążą melatoninę przy pikomolarnym stężeniu hormonu [26, 53]. Gen dla receptorów MT1, MT2 zbudowany jest z dwóch egzonów przedzielonych długim intronem [25]. Podobnie jak inne receptory zaklasyfikowane do nadrodziny receptorów sprzężonych z białkami G (nadrodzina GPCR), receptory melatoninowe MT1 oraz MT2 zbudowane są z siedmiu transbłonowych obszarów hydrofobowych o strukturze helikalnej (TM I –

TM VII) [34]. Za pośrednictwem podjednostki α białka G receptory MT1 hamują aktywność cyklazy adenylowej, zmniejszają ilość wyprodukowanego w komórce cAMP, a w konsekwencji regulują aktywności wybranych kinaz białkowych (PKC, PKA, MAPK) [34]. Zjawisko to pozwala na zmiany poziomu ufosforylowania czynników transkrypcyjnych, tj. CREB (ang. *cAMP Response Element-Binding*) i ekspresję specyficznych genów kodujących białka biorące udział w procesie proliferacji, angiogenezy, różnicowania i migracji komórek [7, 34, 53].

Kolejne, przedstawiane w publikacjach mechanizmy działania melatoniny wiążą się zasadniczo z jej zdolnością do przekraczania sferycznej bariery w postaci błony komórkowej. Hormon ten wiąże się i aktywuje receptory jądrowe należące do podrodziny ROR/RZR (ang. *Retinoid Orphan Receptors/retinoid Z Receptors*), tzw. sierocych receptorów jądrowych [62]. Receptory te biorą udział m.in. w regulacji procesów immunologicznych [25].

Liczne doniesienia wskazują także na cytoplazmatyczne, lecz niereceptorowe działanie melatoniny. Podkreśla się między innymi zdolność owego hormonu do regulacji aktywności kalmoduliny [25] czy też przenoszenia elektronów i unieczynniania wolnych rodników [8].

Melatonina jest zatem wszechstronną biologicznie cząsteczką. Hormon ten jako niewielka molekula o amfifilowej naturze z łatwością dociera do wielu kompartmentów komórki. Może działać bezpośrednio, niezależnie od receptorów lub za ich pośrednictwem, co znacznie utrudnia interpretację jej sposobu działania w różnych sytuacjach.

3. ONKOSTATYCZNE DZIAŁANIE MELATONINY

Od wielu lat prowadzone są badania nad rozwikłaniem podstaw onkostatycznego działania melatoniny w różnego typu nowotworach. Już w latach 80. ubiegłego wieku wskazywano na potencjalny związek pomiędzy powstawaniem nowotworu a działaniem szyszynki, lecz mechanizmy tego zjawiska nie są w pełni poznane do dnia dzisiejszego [2]. Przypuszcza się, iż synteza i sekrecja melatoniny może zwiększać się w odpowiedzi na rozwój raka, co stanowi rodzaj reakcji obronnej organizmu przed powstającym nowotworem [4, 5]. Co więcej, melatonina stosowana w terapii wspomagającej podnosi efektywność działania chemioterapeutyków oraz łagodzi negatywne skutki ich stosowania [27, 28]. Eksperymentalnie wykazano, m.in. znacznie większą niż w przypadku nieoperowanych osobników częstotliwość powstawania nowotworów indukowanych DMBA (dimetylobenzantracenenem) u pinealektomizowanych (pozbawionych szyszynki) szczurów [42]. Dodatkowo, podawanie melatoniny skutecznie zmniejsza ryzyko powstania guza, wydłuża czas pojawienia się guza od momentu działania kancerogenu, redukuje liczbę i wielkość powstających guzów, a powstałe zmiany nowotworowe to częściej zmiany łagodne [21, 42]. Prowadzone są liczne badania na hodowlach komórkowych, mające na celu wytlumaczenie antyproliferującego wpływu melatoniny na komórki nowotworowe [36]. Hamujące działanie

tego hormonu potwierdzono głównie w przypadku komórek raka piersi MCF-7, komórek raka okrężnicy HT-29, ludzkich komórek czerniaka M-6, mysich komórek wątroby HEPA1-6, komórek neuroblastomy SK-N-MC, komórek chromochłonnych guza nadnerczy PC12, czy też komórek raka prostaty LNCaP [25].

3.1 Działanie estrogenów

Połączenie estrogenów z receptorami estrogenowymi (ER) prowadzi do szeregu reakcji, których rezultatem jest produkcja białek odpowiedzialnych za proliferację, różnicowanie i inwazyjność komórek nowotworowych (np. TGF α , IGFR1, CD1, bcl2, VEGF) [52]. Wśród receptorów estrogenowych wyróżniamy receptor estrogenowy ER α oraz ER β . Powszechnie oba receptory zaliczane są do grupy receptorów jądrowych, lecz ostatnie doniesienia wskazują także na ich obecność w cytoplazmie, w pobliżu błony komórkowej [52]. ER α i ER β są produktami różnych genów i choć mają podobną budowę wykazują przeciwstawne działanie: ER β jest negatywnym regulatorem ER α , struktura tych receptorów obejmuje sześć funkcjonalnych domen A–F [52].

Szlak przekazywania sygnału wynikający z aktywności genomowej ER może odbywać się dwiema drogami: klasyczną poprzez element ERE (ang. *Estrogen Response Element*) lub nieklasyczną poprzez białko aktywujące AP-1 czy SP-1. W modelu klasycznym sam receptor ER jest czynnikiem transkrypcyjnym. Proces transkrypcji genów odpowiedzialnych za progresję nowotworów zachodzi po połączeniu kompleksu estrogenu, dimeru receptora ER oraz białek regulatorowych (AIB1, CBP/P300, PCAF) do odpowiedniego miejsca promotorowego na DNA. W modelu nieklasycznym konieczny jest udział innych czynników transkrypcyjnych, takich jak: c-fos, c-jun, co skutkuje aktywacją transkrypcji genów w innych niż ERE (ang. *Estrogen Response Element*) miejscach promotorowych. [51, 52, 73].

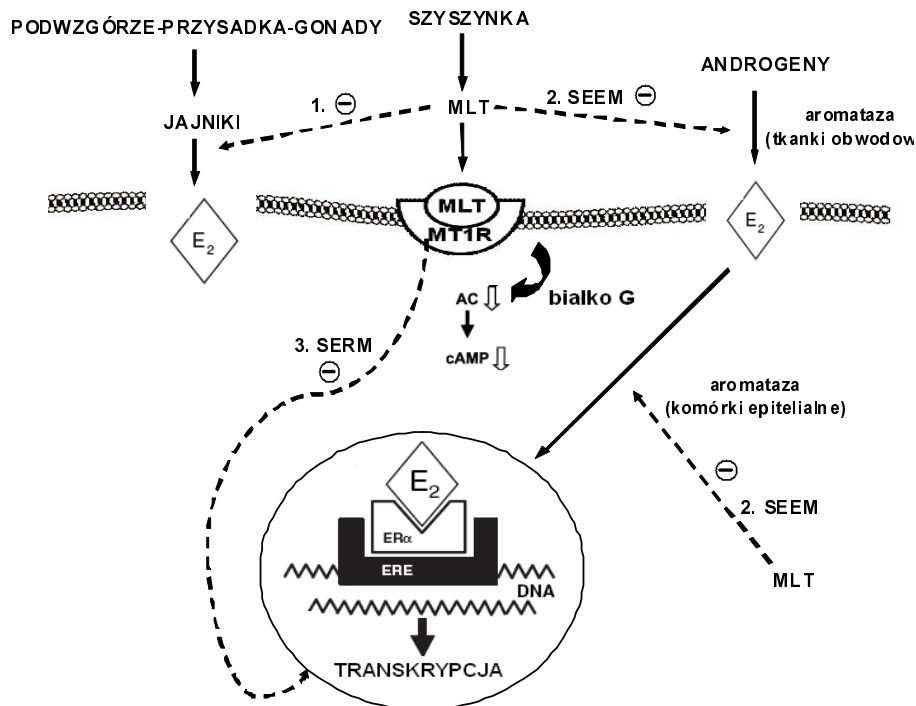
Aktywność pozajądrowa receptora ER polega na pobudzeniu transkrypcji genów poprzez oddziaływanie cytoplazmatycznego kompleksu ER-estrogen z receptorami IGFR1, EGFR i HER-2. Nastęstwem tych relacji jest pobudzenie kinaz MAPK i AKT, które aktywują szlak przekazywania sygnału do jądra komórkowego i uruchamiają jądrowy mechanizm transkrypcji genów zależnych od estrogenów [51, 52, 73].

3.1.1 Bezpośrednie działanie antyestrogenowe melatoniny

3.1.1.1 Skrzyżowanie molekularnych szlaków sygnałowych melatoniny i estrogenów. W latach 80. XX wieku Cohen i wsp. po raz pierwszy zaprezentowali pogląd wskazujący na potencjalną rolę szyszynki w etiologii raka gruczołu piersiowego. Hipoteza ta była konsekwencją doświadczeń, w których zaobserwowano, iż obniżenie czynności szyszynki, a tym samym redukcja syntezy melatoniny, indukuje tzw. „hiperestrogenizm” [15]. Skutkiem nadmiernej i długotrwałej ekspozycji gruczołu piersiowego na działanie estrogenów jest pojawienie się zmian nowotworowych [15]. Kilka lat później, w 1982 roku, Tamarkin i wsp. wykazali między innymi, iż nocne plazmatyczne stężenie melatoniny było dużo niższe u kobiet ER+, u których zdiagnozowano raka gruczołu piersiowego, w stosunku do kobiet ER– chorych na ten typ nowotworu [64].

Dowody wskazujące na bezpośrednie działanie antyestrogenowe melatoniny na komórki raka gruczołu piersiowego pochodzą głównie z badań na wybranych liniach komórkowych *in vitro*. Hamujące działanie melatoniny zaobserwowano w komórkach raka gruczołu piersiowego wykazujących ekspresję receptorów estrogenowych (MCF-7, T47D, ZR-75-1), w przeciwieństwie do komórek niewrażliwych na działanie estrogenów (MDA-MB-231, MDA-MB-364, BT-20, Hs587t) [6, 17]. Najczęściej stosowanym modelem badawczym jest jednakże linia MCF-7, która charakteryzuje się obecnością receptorów estrogenowych ER α oraz ER β , a wzrost komórek zależy od obecności estrogenów w środowisku hodowlanym [10, 44]. Istotny jest także fakt, iż komórki te ekspresjonują receptory melatoninowe MT1 [72]. Melatonina i estrogeny stanowią rodzaj koregulatorów dwóch zasadniczych dla komórki procesów, takich jak proliferacja i różnicowanie [21]. Estrogeny zdecydowanie sprzyjają proliferacji komórek, podczas gdy melatonina skutecznie znosi ten efekt na korzyść ich różnicowania się [21]. Co więcej, melatonina obniża zarówno poziom ekspresji mRNA kodującego ER α , jak i poziom białka ER α , wpływa na regulowane przez estrogeny białka, czynniki wzrostu i protoonkogeny (PgR, c-myc, pS2, TGF β), a transfekcja receptorów melatoninowych MT1 do komórek ER α -dotychczas podnosi efektywność inhibującego działania melatoniny [21]. Aktywacja receptorów melatoninowych MT1 obniża ekspresję genów wrażliwych na działanie estrogenów. Geny te kodują białka niezbędne do wzrostu i progresji guza [56]. Jednym z przykładów powyższej zależności melatoniny i estrogenów jest regulacja ekspresji genu *BRCA1*, który jest podatny zarówno na działanie estradiolu, jak również ma w obszarze promotora sekwencję CRE (ang. *cAMP Response Elements*) [30]. Melatonina za pośrednictwem receptorów MT1 redukuje poziom ufosforylowania białka CREB (ang. *cAMP Response Element-Binding*), przyczyniając się tym samym do obniżenia poziomu ekspresji BRCA1 [30]. Inkubacja hodowli MCF-7 z melatoniną, w przeciwieństwie do estradiolu, zwiększa populację komórek raka gruczołu piersiowego będących w fazie G1/G0 cyklu komórkowego [21]. Efekt ten tłumaczy się pozytywnym wpływem melatoniny na ekspresję białek p53 oraz p21WAF1, co skutkuje zaburzeniem fosforylacji białka Rb i utrudnia przejście komórki z fazy G1 cyklu komórkowego do fazy S [21]. Obecność melatoniny w medium hodowlanym linii MCF-7 zmniejsza również inwazyjność komórek nowotworowych poprzez zwiększenie ilości molekuł adhezyjnych – β -integriny i E-kadheryny oraz liczby połączeń typu gap [18, 21, 23].

Mechanizm powyżej przedstawionych efektów współdziałania melatoniny i estrogenów pozostaje nadal otwartą kwestią. Od kilku lat powszechnie przyjęte jest założenie, iż melatonina w przeciwieństwie do klasycznych antyestrogenów, takich jak tamoksyfen, nie wiąże się bezpośrednio do receptorów estrogenowych, jak również nie ma bezpośredniego wpływu na wiązanie się estradiolu do ER w komórkach raka gruczołu piersiowego [39, 59]. Udowodniono natomiast, że melatonina za pośrednictwem receptorów melatoninowych MT1 obniża poziom ekspresji receptorów estrogenowych oraz hamuje przyłączanie się kompleksu ER-estradiol do sekwencji ERE (ang. *Estrogen Response Element*) na DNA (ryc. 1) [39, 59]. Najbardziej prawdopodobnym wyjaśnieniem tego zjawiska jest negatywny wpływ melatoniny na aktywność cykazy adenylowej, a tym samym na poziom wewnątrzkomórkowego stężenia cAMP indukowanego przez estrogeny. Innym



RYCINA 1. Mechanizmy działania melatoniny w nowotworach estrogeno-zależnych: (1) pośredni mechanizm prowadzący do obniżenia poziomu gonadalnych estrogenów poprzez negatywną regulację osi PPG, (2) bezpośredni mechanizm – melatonina jako selektywny modulator enzymów metabolizmu estrogenów (SEEM) hamuje aktywność i ekspresję mRNA aromatazy, (3) bezpośredni mechanizm – melatonina jako selektywny modulator receptorów estrogenowych (SERM) hamuje m.in. transkrypcję ER oraz wiązanie się E2-ER do ERE. Antyestrogenowe działanie melatoniny nie wynika z bezpośredniego oddziaływania melatoniny z ER, lecz jest rezultatem wiązania się owego hormonu do receptorów melatoninowych MT1 i regulacji wewnątrzkomórkowego poziomu cAMP: AC – cyklaza adenylowa, cAMP – 3'-5'-cykliczny adenylozomonofosforan, E2 – estradiol, ER – receptor estrogenowy, ERE – element odpowiedzi na estrogen, MLT – melatonina, MT1R – receptory melatoninowe, SEEM – selektywny modulator enzymów metabolizmu estrogenów, SERM – selektywny modulator receptorów estrogenowych (wg [21, 59], zmieniony)

FIGURE 1. The mechanisms of melatonin action in estrogen-dependent cancers: (1) indirect mechanism leading to decrease level of circulating gonadal estrogens by down-regulation hypothalamic-pituitary-reproductive axis, (2) direct mechanism – melatonin as a selective estrogen enzyme modulator (SEEM) inhibits the activity and the expression of aromatase mRNA 3) direct mechanism – melatonin as a selective estrogen receptor modulator (SERM) inhibits the transcription of ER and binding of E2-ER to ERE. Anti-estrogenic action of melatonin do not result from a direct interaction of melatonin with ER, but is the result of binding this hormone to melatonin receptors MT1 and regulation of intracellular cAMP: AC – adenylyl cyclase; cAMP – adenosine 3',5'-cyclic monophosphate; E2 – estradiol; ER – estrogen receptor; ERE – estrogen response element; MLT – melatonin; MT1 – melatonin receptor MT1; SEEM – selective estrogen enzyme modulator; SERM – selective estrogen receptor modulator (acc. to [21, 59], changed)

ogniwem łączącym drogi sygnałne melatoniny i estrogenów w komórkach linii MCF-7 jest prawdopodobnie kalmodulina [39, 59]. Proteina ta ma właściwości antyproliferacyjne poprzez zatrzymanie komórek w fazie G1 cyklu komórkowego. Kalmodulina, wiążąc się do receptorów estrogenowych ER α stymuluje fosforylację

receptora i ułatwia zarówno wiązanie estrogenów do ER, jak również przyłączenie kompleksu E-ER α do sekwencji ERE (ang. *Estrogen Response Element*) [59]. Melatonina za pośrednictwem receptorów MT1 i związanych z nimi podjednostkami białka G reguluje wewnątrzkomórkowy poziom wapnia lub bezpośrednio oddziałuje z kalmoduliną, uniemożliwiając jej prawidłowe funkcjonowanie [59].

W połowie XX wieku po raz pierwszy opublikowano wyniki badań przeprowadzonych na szczurach, według których egzogenna melatonina powoduje spadek masy jajników [70]. Zlokalizowanie owej indolowej pochodnej w płynie pęcherzykowym sugeruje również jej bezpośrednie i lokalne działanie [11, 57]. W dużej mierze wielofunkcyjność melatoniny w jajnikach [65] wynika z jej bezpośredniego działania poprzez błonowe receptory melatoninowe MT1 oraz MT2. Już w 1978 Cohen i wsp. jako pierwsi wskazali na obecność miejsc wiązania [³H]melatoniny w jajnikach chomików, szczurów i ludzi [16], a potwierdzeniem tego faktu były kolejne eksperymenty z wykorzystaniem 2-[¹²⁵I]-jodomelatoniny [14, 71]. Narzędzia biologii molekularnej pozwoliły zidentyfikować mRNA dla receptorów MT1 i MT2 w ludzkich komórkach warstwy ziarnistej GC jajników [50]. Wyniki badań *in vitro* na liniach komórkowych nie są jednoznaczne. W przypadku linii komórkowej gruczolakoraka jajnika (BG-1) odnotowano, iż fizjologiczne stężenie melatoniny powoduje 20–25% redukcję liczby komórek [54]. Rezultaty kolejnych badań przeprowadzonych na siedmiu różnych liniach komórek nowotworowych jajnika są jednakże bardzo rozbieżne: wzrost komórek jednej linii był hamowany w 90% przez melatoninę o stężeniu 10⁻⁸, podczas gdy komórki innej linii były inhibowane jedynie w 30% przez hormon o stężeniu 10⁻⁷ [3]. Całkowity brak antyproliferacyjnego działania 5-metoksy-N-acetylotryptaminy zaobserwowano w doświadczeniach na liniach komórek nowotworowych jajnika HTOA oraz OVACR-3 [29]. W bardzo nielicznych publikacjach podjęto kwestię wzajemnych zależności działania estradiolu i melatoniny w komórkach raka jajnika. Silniejszą ekspresję receptorów melatoninowych MT1 zaobserwowano w komórkach SK-OV-3 (ER α -) w przeciwieństwie do komórek linii OVACR-3 (ER α +) [67]. Fakt ten potwierdza wcześniejsze doniesienia o odwrotnej korelacji poziomu ekspresji obu receptorów MT1 i ER α . Zaobserwowano także, iż zastosowanie SERM w postaci czystych antyestrogenów, takich jak ICI 162,780 zwiększa ekspresję receptorów MT1 w komórkach linii OVACR-3 (ER α), natomiast brak zauważalnych efektów w linii komórek SK-OV-3 pozbawionej receptorów estrogenowych. [67]. Powyższe wnioski podtrzymują hipotezę o wzajemnych interakcjach dróg sygnałnych estrogenów i melatoniny, lecz nadal brak wiarygodnych dowodów wyjaśniających mechanizm oraz bezpośrednie działanie antyestrogenowe melatoniny w raku jajnika.

Estrogeny są głównymi hormonami mającymi mitogeny wpływ na endometrium [61]. W fazie folikularnej cyklu miesięczkowego skutkiem działania estrogenów jest wzrost błony śluzowej macicy. Produkowany zaś w fazie lutealnej progesteron, w przeciwieństwie do estrogenów, zmniejsza zdolność proliferacyjną komórek zapobiegając rozrostom endometrium [63]. Wzajemne proporcje między estrogenami a progestagenami stanowią główny czynnik sprzyjający rozwojowi raka endometrium [66]. Istnieją jednakże doniesienia, iż deficyt melatoniny może stanowić dodatkowy

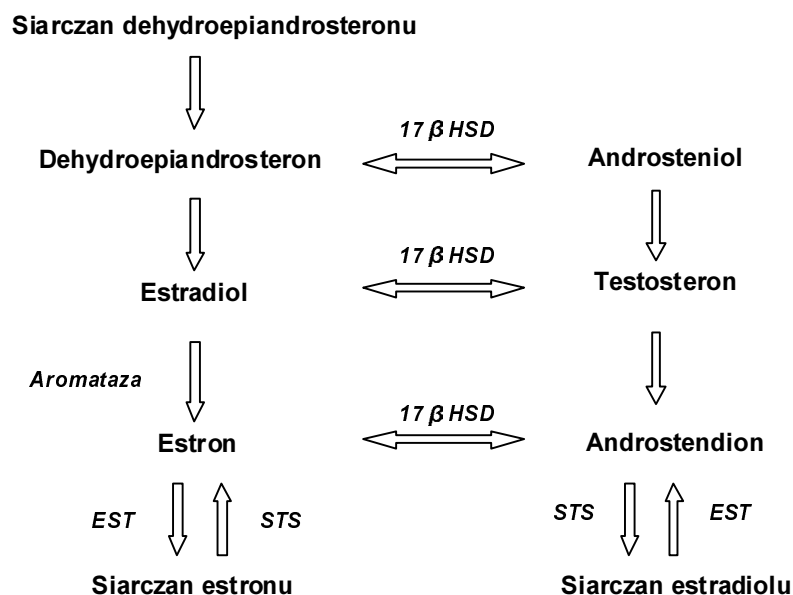
edokrynną element biorący udział w patogenezie tego typu nowotworu. Pierwsze rozważania w tej kwestii podjął na początku lat 90. ubiegłego wieku Sandyk R. [60]. Wskazał on między innymi na związek obniżonego poziomu melatoniny w okresie okołomenopauzalnym (wzrost zachorowalności na raka endometrium) oraz na zwiększony poziom rozrostu endometrium podczas zimy (okres obniżonej sekrecji melatoniny). Co więcej, autor ten podkreśla fakt, iż melatonina ma właściwości anty-estrogenowe, gdyż przeciwdziała wpływom estrogenów stymulując produkcję progesteronu [60, 66]. W przypadku kobiet chorych na raka endometrium odnotowano sześciokrotnie niższy poziom melatoniny we krwi w stosunku do badanej grupy kontrolnej [32]. Kanishi i wsp. [38] po raz pierwszy przeprowadzili doświadczenia na dwóch liniach komórkowych raka endometrium różniących się obecnością receptorów estrogenowych. Okazuje się, iż fizjologiczne stężenie melatoniny (10^{-9} M) ma hamujący wpływ na komórki linii Ishikawa (ER+), w przeciwieństwie do komórek SNG II (ER-) [69]. Z kolei podanie 17β estradiolu znosi inhibujący wpływ melatoniny [69]. Okazuje się, iż w komórkach Ishikawa zidentyfikowano mRNA jedynie dla receptora melatoninowego MT1 [69]. Co więcej, podanie melatoniny w fizjologicznym stężeniu 10^{-9} M powoduje obniżenie ekspresji mRNA ER α , dzięki czemu hormon ten może znieść proliferacyjne działanie estradiolu [69]. Dotychczasowe doniesienia wymagają jednakże potwierdzenia w kolejnych eksperymentach oraz bardziej wnikliwego wyjaśnienia mechanizmu współzależności melatoniny i estrogenów.

3.1.1.2 Lokalna synteza estrogenów celem antynowotworowego działania melatoniny. Jak przedstawiono powyżej, melatonina wpływa na gospodarkę estrogenów, bezpośrednio regulując funkcjonowanie receptorów estrogenowych. Istotny jest także fakt, iż indoloamina ta w sposób bezpośredni ogranicza ilość syntetyzowanych estrogenów. Hamowanie produkcji estrogenów przez melatoninę wydaje się być zasadniczym sposobem zabezpieczania komórek przed nadmierną proliferacją estrogenozależną [20].

Lokalizacja syntezy estrogenów uzależniona jest od wieku kobiety. Przed menopauzą głównym miejscem wytwarzania są jajniki, a u kobiet po wygaśnięciu wewnątrzwydzielniczej czynności jajników są tkanki obwodowe [20]. Ponadto również tkanki nowotworów piersi, jajnika i endometrium charakteryzują się samodzielną produkcją estrogenów [12]. Lokalna synteza estrogenów w obrębie guza odgrywa zasadniczą rolę w transformacji nowotworowej [22, 35, 43], o czym świadczy między innymi wzmożone występowanie owych nowotworów u kobiet po menopauzie [1, 22, 68]. Zatrzymanie tego procesu może stać się istotą leczenia nowotworów estrogenozależnych.

Bezpośredni wpływ melatoniny na produkcję aktywnych estrogenów związany jest z regulacją enzymów biorących udział w syntezie i przemianach hormonów steroidowych. Tym sposobem melatonina wykazuje cechy charakteryzujące grupę związków będących selektywnymi modulatorami enzymów szlaku przemian estrogenów, tzw. SEEM (ang. *Selective Estrogen Enzyme Modulator*) [20].

3.1.1.2a Melatonina a aromataza w nowotworach hormonozależnych. Nadrzędnym enzymem biorącym udział w syntezie estrogenów jest kompleks aromatazy P450 [13]. Enzym ten przekształca prekursor androgenowe (testosteron



RYCINA 2. Enzymatyczny mechanizm lokalnej produkcji estrogenów w komórkach raka gruczołu piersiowego: 17β-HSD – dehydrogenaza 17β-hydroksysteroidowa, EST – sulfotransferaza estrogenowa, STS – sulfataza (wg [20] zmieniony)

FIGURE 2. Enzymatic mechanism of local estrogen production in breast cancer cells: 17βHSD – 17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase, EST – estrogen-sulfotransferase, STS – steroid sulfatase (acc. to [20], changed)

i androstendion) w estrogeny (estradiol i estron) (ryc. 2) [24]. Zważywszy na fakt, iż aromataza kodowana jest przez pojedynczy gen (*CYP19*), hamowanie ekspresji tego genu skutecznie eliminuje biosyntezę estrogenów [13].

Jajniki i tkanki obwodowe wykazują prawidłową ekspresję aromatazy. Zupełnie odmiennie wygląda sytuacja w nowotworach gruczołu piersiowego, jajnika i endometrium, gdzie obserwowana jest nadekspresja aromatazy i związane z tym wysokie lokalne stężenie estrogenów [12]. Tym sposobem guzy wykazujące ekspresję aromatazy stają się same dla siebie ważnym źródłem estrogenów [33].

Nadekspresja aromatazy jest rezultatem zaburzonej kontroli ekspresji kodującego ją genu [12]. Gen aromatazy wyróżnia się obecnością wielu tkankowo-specyficznych regionów promotorowych, alternatywnych względem siebie [41, 49]. Drastycznie podniesiona ekspresja w nowotworach gruczołu piersiowego, jajnika i endometrium wynika głównie ze zwiększonej aktywności promotorów cAMP-zależnych – I.3 i II [12]. Cechą swoistą promotorów cAMP-zależnych jest występowanie sekwencji wiążących białko CREB (ang. *cAMP-response Element Binding Protein*), w związku z czym aktywacja promotorów I.3 i II wymaga podwyższonego poziomu cAMP w komórce [46, 49].

W przeciagu ostatnich kilku lat przeprowadzono badania nad możliwym wpływem melatoniny na aromatazę. Wykazano w badaniach *in vitro* i *in vivo*, iż melatonina hamuje zarówno aktywność, jak i ekspresję mRNA aromatazy [46]. W doświadczeniach *in vitro* modelową linią komórkową, na której analizowano wpływ melatoniny na aromatazę, była ludzka linia raka gruczołu piersiowego estrogenozależnego

MCF-7. Linia MCF-7 raka piersi wydaje się bardzo dobrze odwzorowywać warunki panujące w hormonozależnych nowotworach, gdyż oprócz estrogenowrażliwości, charakteryzuje się zarówno ekspresją aromatazy, jak i receptorów MT1 [22]. Badania *in vivo* przeprowadzono natomiast na szczurach z guzem gruczołu piersiowego hormono-zależnego indukowanym DMBA (dimetylo(a)-benzenoantracen) [19].

Cos i wsp. jako pierwsi wykazali hamujący wpływ melatoniny na aromatazę w komórkach nowotworowych MCF-7 [22]. Melatonina zmniejsza aktywność podstawowego poziomu aromatazy, jak również aktywność enzymu po dodaniu cAMP lub kortyzonu [22]. Zbadano także oddziaływanie melatoniny na ekspresję genu aromatazy. W komórkach poddanych działaniu melatoniny zawartość transkryptów mRNA aromatazy jest znacząco niższa w stosunku do komórek nietraktowanych melatoniną [22]. Co więcej, melatonina ogranicza również podziały komórek MCF-7 indukowane substratem dla aromatazy – testosteronem [22]. Wyniki te zachęciły do przeprowadzania dalszych analiz.

Hamowanie przez melatoninę aromatazy w hormonozależnych nowotworach wykazano również *in vivo*. Badania przeprowadzono na szczurach z indukowanym rakiem gruczołu piersiowego. Zwierzętom usunięto jajniki (źródło estrogenów) i poddano działaniu testosteronu (substrat dla aromatazy) – wzrost guzów zależał tylko od mitogennego wpływu estrogenów powstałych w wyniku lokalnej aktywności aromatazy [19]. Podawana melatonina hamowała wzrost guzów, a efekt ten był porównywalny do efektu wywoływanego aminoglutetymidem – inhibitorem aromatazy stosowanym w leczeniu raka gruczołu piersiowego [19]. Pozytywny wpływ melatoniny przekładał się na długość życia chorych zwierząt, co niewątpliwie jest najbardziej wymiernym efektem znaczenia hamowania aromatazy przez hormon szyszynki [19].

W kolejnych badaniach wykazano również, że preinkubacja z melatoniną komórek MCF-7 wzmacnia działanie wspomnianego już inhibitora aromatazy – aminoglutetymidu. Uwrażliwianie komórek na działanie inhibitora jest najprawdopodobniej wynikiem obniżenia przez melatoninę ekspresji mRNA aromatazy w komórkach MCF-7 [45]. Wyniki te dają podstawę badaniom nad melatoniną jako leku wspomagającego działanie inhibitorów aromatazy (terapia adjuwantowa) [45].

Mechanizmy, poprzez które melatonina hamuje aktywność i ekspresję aromatazy, nie są jednak do końca poznane. Niewątpliwie zdolność melatoniny do obniżania stężenia wewnątrzkomórkowego cAMP odgrywa zasadniczą rolę [22, 31]. Jak przedstawiono powyżej, w nowotworach estrogenozależnych gruczołu piersiowego, endometrium i jajnika ekspresja aromatazy znajduje się głównie pod kontrolą promotorów, których aktywacja wymaga podwyższonego stężenia cAMP [12]. Zważywszy na fakt, iż melatonina obniża stężenie cAMP za pośrednictwem receptorów MT1, ten cykliczny nukleotyd wydaje się być kluczowym ogniwem oddziaływania melatonina – aromataza w komórkach nowotworowych [31]. Obniżanie stężenia cAMP przez melatoninę skutkuje zmniejszoną aktywnością promotorów cAMP-zależnych i tym samym hamuje ekspresję aromatazy w obrębie guza [22, 31]. Mechanizm hamowania samej aktywności aromatazy przez melatoninę pozostaje nadal otwartą kwestią. Być może obserwowany spadek aktywności jest wtórny, a przyczyna również tkwi w hamowaniu ekspresji mRNA aromatazy [45].

Również badania przeprowadzone przez Gonzales i wsp. [31] potwierdzają teorię zaangażowania receptorów melatoninowych MT1 w proces hamowania aromatazy przez melatoninę. Autorzy Ci analizowali wpływ nadekspresji receptorów MT1 na zdolność melatoniny do obniżania aromatyzacji w komórkach MCF-7. Komórki poddano działaniu melatoniny i uzyskano bardzo obiecujące wyniki. W komórkach transfekowanych receptorem MT1 aktywność aromatazy była niższa o 50%, a ekspresja mRNA aromatazy o 55% w porównaniu z wynikami uzyskanymi w komórkach grupy kontrolnej. Transfekcja receptorem MT1 obniżała także proliferację komórek hodowanych w obecności melatoniny i testosteronu, ale bez estradiolu, co także może mieć związek z procesem aromatyzacji [31].

Same estrogeny również stymulują aromatazę przez podwyższanie poziomu cAMP [33]. To zjawisko wydaje się być szczególnie istotne, zapewniając w obrębie guza lokalne, bardzo wysokie stężenie estrogenów. Melatonina obniżając poziom cAMP zatrzymuje samonapędzającą się syntezę estrogenów, zapobiegając autonomii komórek nowotworowych w autogennej indukcji czynników stymulujących proliferację [31].

Powyższe dowody wskazują na zdolność melatoniny do bezpośredniego hamowania ekspresji aromatazy. Wykazano również, iż melatonina w sposób pośredni hamuje ekspresję tego enzymu, zaburzając syntezę i szlaki sygnałowe prostaglandyny E2 (PGE2) [46]. PGE2 jest najsilniejszym znanym induktorem ekspresji aromatazy aktywującym cAMP-zależne szlaki, których rezultatem jest nadmierna transkrypcja genu aromatazy poprzez promotory I.3 i II [13, 46]. Mechanizm ten najprawdopodobniej zależy od receptorów MT1, ponieważ ulega częściowemu odwróceniu przez dodanie luzindolu – inhibitora receptora MT1 [46]. Udział receptorów MT1 oraz indukcja ekspresji aromatazy przez PGE2 w wyniku aktywacji promotorów cAMP-zależnych sugeruje, iż zdolność melatoniny do obniżania cAMP jest istotnym elementem zależności melatonina-PGE2 [46].

Z kolei enzymem katalizującym reakcje powstawania prostaglandyn jest cyklooksygenaza (Cox) [46]. Znane są dwie izoformy tego enzymu: Cox-1, Cox-2. Cox-1 ulega ekspresji konstytutywnie, a ekspresja Cox-2 jest indukowana takimi czynnikami, jak: mitogeny, cytokiny i czynniki wzrostu [48]. Wiele badań potwierdza udział Cox, zwłaszcza Cox-2 w rozwoju nowotworów [55]. Wykazano m.in. nadekspresję Cox-2 w tkankach nowotworowych gruczołu piersiowego, endometrium i jajnika, co potwierdza zależność pomiędzy Cox-2 a kancerogenezą [48, 55]. Melatonina hamuje ekspresję mRNA Cox-2 w komórkach MCF-7, obniżając jej poziom nawet 10-krotnie. Melatonina również obniża aktywność enzymatyczną obu izoform Cox, być może poprzez bezpośrednie wiązanie się do cząsteczki enzymu [46].

Hamowanie syntezy estrogenów zdaje się bardzo skuteczną metodą zapobiegania niepożądanego proliferacji. Jak przedstawiono powyżej, melatonina skutecznie hamuje aromatazę w komórkach nowotworu gruczołu piersiowego, nie obniżając poziomu estrogenów krążących w całym organizmie. Ten sposób hamowania aromatazy przez melatoninę jest tkankowo-specyficzny, co jest szczególnie obiecujące, gdyż ogranicza hamowanie aromatazy głównie przez inaktywację promotorów regulujących ekspresję w obrębie guza (promotory I.3 i II). Przez analogię można się spodziewać

podobnych rezultatów w raku jajnika i endometrium zważywszy na fakt, iż coraz częściej mówi się o roli inhibitorów aromatazy w leczeniu tych nowotworów [13].

3.1.1.2b *Melatonina a pozostałe enzymy szlaku przemian estrogenów.* Aromataza nie jest jedynym enzymem biorącym udział w syntezie i przemianach estrogenów. Sulfotransferaza (EST), sulfataza (STS) oraz dehydrogenaza 17β hydroksysteroidowa (17β HSD) są enzymami o równie znaczącej roli w utrzymaniu poziomu i dostępności aktywnych biologicznie estrogenów. Nieaktywna pula estrogenów tworzona jest przez dołączenie grupy siarczanowej, a enzymem kontrolującym tę reakcję jest EST, który inaktywując estron i estradiol zabezpiecza tkanki przed nadmiernym wpływem estrogenów [20]. Odwrotną reakcję katalizuje STS, czyli przekształca siarczany estronu i estradiolu w aktywne estrogeny. Estrogeny z różną siłą indukują proliferację komórek nowotworowych. Estradiol zdecydowanie przewyższa w działaniu słaby estron, stając się głównym czynnikiem progresji nowotworów hormonozależnych. Stąd ogromne znaczenie ostatniego z wymienionych enzymów [20]. 17β HSD reguluje wzajemną przemianę obu estrogenów, decydując w ten sposób o proporcjach pomiędzy estronem a estradiolem. Istnieją dwa typy 17β HSD – katalizujący postawanie estradiolu (typ I) oraz estronu (typ II) [20].

Gonzales i wsp. zbadali wpływ melatoniny na sulfotransferazę, sulfatazę oraz dehydrogenazę 17β hydroksysteroidową w komórkach raka gruczołu piersiowego – MCF-7 [31]. Komórki te są właściwym modelem doświadczalnym, ponieważ wykazują ekspresję wszystkich enzymów zaangażowanych w syntezę i przemiany estrogenów w guzie nowotworowym *in vivo*. Podczas badań na komórkach MCF-7 stwierdzono nadekspresję STS oraz 17β HSD typu I i obniżenie ekspresji EST i 17β HSD typu II, co przesuwą równowagę w kierunku nadprodukcji estradiolu stymulującego proliferację [31]. Melatonina redukuje aktywność i ekspresję mRNA STS, a podwyższa aktywność i ekspresję mRNA EST. Tym sposobem melatonina zwiększa zasób nieaktywnych pochodnych siarczanowych estrogenów, które nie łącząc się z receptorami estrogenowymi nie indukują proliferacji [31]. Ponadto, melatonina również obniża aktywność i ekspresję mRNA 17β HSD typu I zmniejszając poziom estradiolu na korzyść estronu, podobnie jak w tkankach prawidłowych [31].

Wszystkie eksperymenty analizujące znaczenie melatoniny jako SEEM (ang. *Selective Estrogen Enzyme Modulator*) przeprowadzono na modelu raka gruczołu piersiowego. Uzyskane wyniki są obiecujące, a zaangażowanie aromatazy i pozostałych enzymów szlaku przemian estrogenów w nowotworach endometrium i jajnika dają podstawy postawienia hipotezy o prawdopodobnej modulującej roli melatoniny w tych hormonozależnych nowotworach.

3.1.2 Pośrednie działanie antyestrogenowe melatoniny

3.1.2.1 **Melatonina a oś podwzgórze-przysadka-gonady.** Wpływ melatoniny na układ rozrodczy człowieka był przedmiotem wielu badań, uwzględniając zwłaszcza fakt obecności receptorów melatoninowych w ośrodkowym układzie nerwowym [9]. Odkryte zależności pomiędzy melatoniną a rozwojem płciowym stały się podstawą

badań nad melatoniną w aspekcie funkcjonowania osi podwzgórze-przysadka-gonady (PPG) (ryc. 1). Zaburzenia stężenia melatoniny we krwi towarzyszą również wybranym schorzeniom osi PPG, takim jak np. hipogonadyzm hipo- lub hipergonadotropowy, czy też podwzgórzowy brak miesiączki [9].

Czynność układu podwzgórzowo-przysadkowego opiera się m.in. na produkcji i sekrecji gonadoliberyny (GnRH) i gonadotropin (LH i FSH) [37]. Końcowym efektem działania osi jest regulacja stężenia krążących we krwi estrogenów na zasadzie ujemnego sprzężenia zwrotnego [37]. Jak przedstawiono we wstępie, hormony te są zasadniczym czynnikiem indukującym proliferację i inwazyjność komórek nowotworów hormonozależnych. Powszechnie przyjęto hipotezę o prawdopodobnym hamującym wpływie hormonu szyszynki na gonadoliberynę wydzielaną przez nadrzędny gruczoł osi – podwzgórze [9, 37]. Efekt ten przekłada się na zmniejszenie uwalniania hormonów gonadotropowych z przysadki, czego konsekwencją jest obniżenie poziomu estrogenów krążących we krwi [9, 37]. Wyniki dotychczasowych badań nie są jednakże jednoznaczne i różnią się między sobą m.in. ze względu na płeć, wiek oraz gatunek użytych do eksperymentu zwierząt, a także ze względu na stężenia hormonu i pory dnia wykonywania badań [37]. Interesującym doniesieniem, dodatkowo potwierdzającym wpływ melatoniny na czynność podwzgórza jest hamujący wpływ owego hormonu na ekspresję genu *GnRH* poprzez receptory melatoninowe MT1 [37]. Co więcej, receptory melatoninowe MT1 mogą odgrywać zasadniczą rolę w regulacji uwalniania LH (luteotropiny) i FSH (folikulotropiny) [37]. Poziom ekspresji receptorów melatoninowych jest jednym z głównych czynników determinujących efekt działania melatoniny na przysadkę [37]. Prawdopodobne hamujące działanie melatoniny na wydzielanie GnRH oraz gonadotropin skutkuje obniżeniem syntezy estrogenu, co może mieć znamienne znaczenie w hamowaniu rozwoju nowotworów hormonozależnych.

4. PODSUMOWANIE

Dotychczas odkryte i nadal odkrywane szlaki, przez które melatonina prawdopodobnie zapobiega rozwojowi i progresji nowotworów, tylko w niewielkim stopniu przybliżają nas do wyjaśnienia szerokiego spektrum działania tej niepozornej cząsteczki. Udowodniono w wielu doświadczeniach onkostatyczny efekt melatoniny wywierany na komórki raka gruczołu piersiowego. Obiecujące wyniki eksperymentów nad hormonozależnym rakiem gruczołu piersiowego zachęciły do badań nad innymi nowotworami hormonozależnymi, czego owocem są jeszcze nieliczne, ale już prowadzone badania nad wpływem tej indoloaminy na nowotwory endometrium i jajnika.

W przypadku guzów estrogenozależnych, melatonina łączy w sobie zaskakująco różnorodne mechanizmy działania przeciwnowotworowego. Interakcje melatoniny z estrogenami wydają się być podstawą jej właściwości hamujących rozwój nowotworów hormonozależnych. Oddziaływanie melatoniny z estrogenami jest wielobiegowe i może wpływać na regulację zarówno hormonów odpowiedzialnych za poziom krążących estrogenów, jak i ścieżek sygnałowych estrogenów oraz obniżać lokalną syntezę estrogenów w obrębie guza.

Mechanizmy, przez które melatonina hamuje proliferację estrogenozależną, nadal nie są ostatecznie wyjaśnione. Z danych zebranych na dzień dzisiejszy wynika, iż głównym pośrednikiem w onkostatycznej funkcji melatoniny jest receptor MT1 i być może właśnie ten receptor należy intensywnie badać w następnych etapach odkrywania szlaków działania hormonu szyszynki. Również ze względu na dużą toksyczność przeciwnowotworowej terapii cytostatykami melatonina może w przyszłości zostać rutynowym lekiem wspomagającym w klinice onkologicznej.

5. PIŚMIENNICTWO

- [1] ASENDRYCH A, DEPTALA A. Hormonalna terapia zastępcza w nowotworach hormonozależnych. *Współ Onkol* 2004; **8**: 81–85.
- [2] BARTSCH H, BARTSCH C. Effect of melatonin on experimental tumors under different photoperiods and times of administration. *J Neural Transm* 1981; **52**: 269–279.
- [3] 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**: 2953–2960.
- [4] BLASK DE, BRAINARD GC, DAUCHY RT, HANIFIN JP, DAVIDSON LK, KRAUSE JA, SAUER LA, RIVERA-BERMUNDEZ MA, DUBICOVICH ML, JASSER SA, LYNCH DT, ROLLAG MD, ZALATAN F. Melatonin-depleted blood from premenopausal women exposed to light at night stimulates growth of human breast cancer xenografts in nude rats. *Cancer Res* 2005a; **65**: 11174–11184.
- [5] BLASK DE, DAUCHY RT, SAUER LA. Putting cancer to sleep at night: the neuroendocrine/circadian melatonin signal. *Endocrine* 2005b; **27**: 179–188.
- [6] BLASK DE, HILL SM. Effects of melatonin on cancer: studies on MCF-7 human breast cancer cells in culture. *J Neural Transm* 1986; **21**(Suppl.): 433–449.
- [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**: 113–132.
- [8] BLASK DE. Melatonin, sleep disturbance and cancer risk. *Sleep Med Rev* 2009; **13**: 257–264.
- [9] BOCZEK-LESZCZYK E, JUSZCZAK M. The influence of melatonin on human reproduction. *Pol Merkur Lekarski* 2007; **23**: 128–130.
- [10] BROOKS SC, LOCKE ER, SOULE HD. Estrogen receptor in a human breast tumor cell line (MCF-7) from breast carcinoma. *J Biol Chem* 1973; **248**: 6251–6256.
- [11] BRZEZINSKI A, SEIBEL MM, LYNCH HJ, DENG MH, WURTMAN RJ. Melatonin in human preovulatory follicular fluid. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; **64**: 865–7.
- [12] BULUN SE, CHEN D, LU M, ZHAO H, CHENG Y, DEMURA M, YILMAZ B, MARTIN R, UTSUNOMIYA H, THUNG S, SU E, MARSH E, HAKIMA, YIN P, ISHIKAWA H, AMIN S, IMIR G, GURATES B, ATTAR E, REIERSTAD S, INNES J, LIN Z. Aromatase excess in cancers of breast, endometrium and ovary. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007; **106**: 81–96.
- [13] BULUN SE, LIN Z, ZHAO H, LU M, AMIN S, REIERSTAD S, CHEN D. Regulation of aromatase expression in breast cancer tissue. *Ann NY Acad Sci* 2009; **1155**: 121–131.
- [14] CLEMENS JW, JARZYŃKA MJ, WITT-ENDERBY PA. Down-regulation of mt1 melatonin receptors in rat ovary following estrogen exposure. *Life Sci* 2001; **69**: 27–35.
- [15] COHEN M, LIPPMAN M, CHABNER B. Role of pineal gland in aetiology and treatment of breast cancer. *Lancet* 1978; **2**: 814–816.
- [16] COHEN M, ROSELLE D, CHABNER B, SCHMIDT TJ, LIPPMAN M. Evidence for a cytoplasmic melatonin receptor. *Nature* 1978; **274**: 894–895.
- [17] COS S, FERNANDEZ R, GUEZMES A, SANCHEZ-BARCELO EJ. Influence of melatonin on invasive and metastatic properties of MCF-7 human breast cancer cells. *Cancer Res* 1998; **58**: 4383–4390.
- [18] COS S, FERNANDEZ R. Melatonin effects on intercellular junctional communication in MCF-7 human breast cancer cells. *J Pineal Res* 2000; **29**: 166–171.

- [19] COS S, GONZALEZ A, GUEZMES A, MEDIAVILLA MD, MARTINEZ-CAMPA C, ALONSO-GONZALEZ C, SANCHEZ-BARCELO EJ. Melatonin inhibits the growth of DMBA-induced mammary tumors by decreasing the local biosynthesis of estrogens through the modulation of aromatase activity. *Int J Cancer* 2006b; **118**: 274–278.
- [20] COS S, GONZALEZ A, MARTINEZ-CAMPA C, MEDIAVILLA MD, ALONSO-GONZALEZ C, SANCHEZ-BARCELO EJ. Melatonin as a selective estrogen enzyme modulator. *Curr Cancer Drug Targets* 2008; **8**: 691–702.
- [21] COS S, GONZALEZ A, MARTINEZ-CAMPA C, MEDIAVILLA MD, ALONSO-GONZALEZ C, SANCHEZ-BARCELO EJ. Estrogen-signaling pathway: a link between breast cancer and melatonin oncogenic actions. *Cancer Detect Prev* 2006a; **30**: 118–128.
- [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* 2005; **38**: 136–142.
- [23] COS S, SANCHEZ-BARCELO EJ. Melatonin and mammary pathological growth. *Front Neuroendocrinol* 2000; **21**: 133–170.
- [24] CZAJKA-ORANIEC I, SIMPSON ER. Znaczenie kliniczne badań nad aromatazą. *Endokrynol Pol* 2010; **61**: 126–134.
- [25] DANIELCZYK K, DZIEGIEL P. MT1 melatonin receptors and their role in the oncogenic action of melatonin. *Post Hig Med Dosw* 2009a; **63**: 425–434.
- [26] DANIELCZYK K, DZIEGIEL P. The expression of MT1 melatonin receptor and Ki-67 antigen in melanoma malignum. *Anticancer Res* 2009b; **29**: 3887–3895.
- [27] DZIEGIEL P, PODHORSKA-OKOŁÓW M, ZABEL M. Melatonin: adjuvant therapy of malignant tumors. *Med Sci Monit* 2008; **14**: RA64–70.
- [28] FISHER TW, SLOMINSKI RM, ZMIJEWSKI MA, ZBYTEK B. Oncogenic effects of the indole melatonin and expression of its cytosolic and nuclear receptors in cultured human melanoma cell lines. *Inter J Oncol* 2006; **29**: 665–672.
- [29] FUTAGAMI M, SATO S, SAKAMOTO T, YOKOYAMA Y, SAITO Y. Effects of melatonin on the proliferation and cis-diamminedichloroplatinum (CDDP) sensitivity of cultured human ovarian cancer cells. *Gynecol Oncol* 2001; **82**: 544–549.
- [30] GIRGERT R, HANF V, EMONS G, GRUNDKER C. Membrane-bound melatonin receptor MT1 down-regulates estrogen responsive genes in breast cancer cells. *J Pineal Res* 2009; **47**: 23–31.
- [31] GONZALEZ A, MARTINEZ-CAMPA C, MEDIAVILLA MD, ALONSO-GONZALEZ C, SANCHEZ-MATEOS S, HILL SM, SANCHEZ-BARCELO EJ, COS S. Effects of MT1 melatonin receptor over-expression on the aromatase-suppressive effect of melatonin in MCF-7 human breast cancer cells. *Oncol Rep* 2007; **17**: 947–953.
- [32] GRIN W, GRUNBERGER W. A significant correlation between melatonin deficiency and endometrial cancer. *Gynecol Obstet Invest* 1998; **45**: 62–65.
- [33] JARZABEK K, WOŁCZYŃSKI S. Rola aromatazy w raku sutki. *Przeg Menopauz* 2003; **5**: 12–16.
- [34] JOCKERS R, MAURICE P, BOUTIN JA, DELAGRANGE P. Melatonin receptors, heterodimerization, signal transduction and binding sites: what's new? *Br J Pharmacol* 2008; **154**: 1182–1195.
- [35] JONGEN VH, THIJSEN JH, HOLLEMA H, DONKER GH, SANTEMA JG, VAN DER ZEE AG, HEINEMAN MJ. Is aromatase cytochrome P450 involved in the pathogenesis of endometrioid endometrial cancer? *Int J Gynecol Cancer* 2005; **15**: 529–536.
- [36] JUNG B, AHMAD N. Melatonin in Cancer Management: Progress and Promise. *Cancer Res* 2006; **66**: 9789–9793.
- [37] JUSZCZAK M, MICHALSKA M. The effect of melatonin on prolactin, luteinizing hormone (LH), and follicle-stimulating hormone (FSH) synthesis and secretion. *Post Hig Med Dosw* 2006; **60**: 431–438.
- [38] KANISHI Y, KOBAYASHI Y, NODA S, ISHIZUKA B, SAITO K. Differential growth inhibitory effect of melatonin on two endometrial cancer cell lines. *J Pineal Res* 2000; **28**: 227–233.
- [39] KIEFER T, RAM PT, YUAN L, HILL SM. Melatonin inhibits estrogen receptor transactivation and cAMP levels in breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat* 2002; **71**: 37–45.
- [40] KOBAYASHI Y, ITOH MT, KONDO H, OKUMA Y, SATO S, KANISHI Y, HAMADA N, KIGUCHI K, ISHIZUKA B. Melatonin binding sites in estrogen receptor-positive cells derived from human endometrial cancer. *J Pineal Res* 2003; **35**: 71–74.
- [41] KOWALEWSKA-ŁUCZAK I, KMIEĆ M, TREMAN A. Aromataza cytochromu P 450-kluczowy enzym syntezy estrogenów. *Med Wet* 2006; **62**: 870–872.

- [42] LENOIR V, DE JONAGE-CANONICA MB, PERRIN MH, MARTIN A, SCHOLLER R, KERDELHUE B. Preventive and curative effect of melatonin on mammary carcinogenesis induced by dimethylbenz[a]anthracene in the female Sprague-Dawley rat. *Breast Cancer Res* 2005; **7**: 470–476.
- [43] LI YF, HU W, FU SQ, LI JD, LIU JH, KAVANAGH JJ. Aromatase inhibitors in ovarian cancer: is there a role? *Int J Gynecol Cancer* 2008; **18**: 600–614.
- [44] LIPPMAN ME, BOLAN G, HUFF K. The effects of estrogen and antiestrogen on hormone-responsive human breast cancer in long-term tissue culture. *Cancer Res* 1976; **36**: 4595–4601.
- [45] MARTINEZ-CAMPA C, GONZALEZ A, MEDIAVILLA MD, ALONSO-GONZALEZ C, SANCHEZ-BARCELO EJ, COS S. Melatonin enhances the inhibitory effect of aminoglutethimide on aromatase activity in MCF-7 human breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat* 2005; **94**: 249–254.
- [46] MARTINEZ-CAMPA C, GONZALEZ A, MEDIAVILLA MD, ALONSO-GONZALEZ C, ALVAREZ-GARCIA V, SANCHEZ-BARCELO EJ, COS S. Melatonin inhibits aromatase promoter expression by regulating cyclooxygenases expression and activity in breast cancer cells. *Brit J C* 2009; **101**: 1613–1619.
- [47] MATTHEWS J, GUSTAFSSON JA. Estrogen signaling: a subtle balance between ER alpha and ER beta. *Mol Interv* 2003; **3**: 281–292.
- [48] MAZHAR D, GILLMORE R, WAXMAN J. COX and cancer. *QJM* 2005; **98**: 711–718.
- [49] MILCZAREK R, KLIMEK J. Aromataza – kluczowy enzym biosyntezy estrogenów. *Post Bioch* 2005; **51**: 430–439.
- [50] NILES LP, WANG J, SHEN L, LOBB DK, YOUNGLAI EV. Melatonin receptor mRNA expression in human granulosa cells. *Mol Cell Endocrinol* 1999; **156**: 107–110.
- [51] NILSSON S, GUSTAFSSON JA. Estrogen receptor transcription and transactivation: Basic aspects of estrogen action. *Breast Cancer Res* 2000; **2**: 360–366.
- [52] OSBORNE CK, SCHIFF R. Estrogen-Receptor Biology: Continuing Progress and Therapeutic Implications. *J Clin Oncol* 2005; **23**: 1616–1622.
- [53] PANDI-PERUMAL SR, TRAKHT I, SRINIVASAN V, SPENCE DW, MAESTRONI GJ, ZISAPEL N, CARDINALI DP. Physiological effects of melatonin: role of melatonin receptors and signal transduction pathways. *Prog Neurobiol* 2008; **85**: 335–353.
- [54] PATRANKAJ, BALDWIN W, BIERMANN J, JAYADEV S, BARRETT JC, MURPHY E. The oncostatic action of melatonin in an ovarian carcinoma cell line. *J Pineal Res* 1999; **26**: 129–136.
- [55] RASK K, ZHU Y, WANG W, HEDIN L, SUNDFELDT K. Ovarian epithelial cancer: a role for PGE2-synthesis and signalling in malignant transformation and progression. *Mol Cancer* 2006; **16**; **5**: 62 doi:10.1186/1476-4598-5-62.
- [56] ROGELSPERGER O, EKMEKCIOGLU C, JAGER W, KLIMPFINGER M, KONIGSBERG R, KRENBEB D, SELLNER F, THALHAMMER T. Coexpression of the melatonin receptor 1 and nestin in human breast cancer specimens. *J Pineal Res* 2009; **46**: 422–432.
- [57] RONNBERG L, KAUPPILA A, LEPPALUOTO J, MARTIKAINEN H, VAKKURI O. Circadian and seasonal variation in human preovulatory follicular fluid melatonin concentration. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; **71**: 492–496.
- [58] RUMIANOWSKI B, LESZCZYNSKA M, BRODOWSKA A, PIASECKA M, KARAKIWICZ B. Polimorfizm genetyczny kluczowych enzymów szlaku biosyntezy estrogenów u kobiet. *Post Biol Kom* 2009; **37**: 41–62.
- [59] SANCHEZ-BARCELO EJ, COS S, MEDIAVILLA D, MARTINEZ-CAMPA C, GONZALEZ A, ALONSO-GONZALEZ C. Melatonin-estrogen interactions in breast cancer. *J Pineal Res* 2005; **38**: 217–222.
- [60] SANDYK R, ANASTASIADIS PG, ANNINOS PA, TSAGAS N. Is the pineal gland involved in the pathogenesis of endometrial carcinoma. *Int J Neurosci* 1992; **62**: 89–96.
- [61] SHERMAN ME. Theories of endometrial carcinogenesis: a multidisciplinary approach. *Mod Pathol* 2000; **13**: 295–308.
- [62] SMIRNOV AN. Nuclear melatonin receptors. *Biochemistry* 2001; **66**: 19–26.
- [63] SMUC T, RIZNER TL. Aberrant pre-receptor regulation of estrogen and progesterone action in endometrial cancer. *Mol Cell Endocrinol* 2009; **301**: 74–82.
- [64] TAMARKIN L, DANFORTH D, LICHTER A, DEMOSS E, COHEN M, CHABNER B, LIPPMAN M. Decreased nocturnal plasma melatonin peak in patients with estrogen receptor positive breast cancer. *Science* 1982; **216**: 1003–1005.
- [65] TAMURA H, NAKAMURA Y, KORKMAZ A, MANCHSTER LC, TAN DX, SIGINO N, RIEITER RJ. Melatonin and the ovary: physiological and pathophysiological implications. *Fertil Steril* 2009; **92**: 328–343.

- [66] TINELLIA, VERGARA D, MARTIGNAGO R, LEO G, MALVASIA, TINELLI R. Hormonal carcinogenesis and socio-biological development factors in endometrial cancer: a clinical review. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2008; **87**: 1101–1113.
- [67] TREECK O, HALDAR C, ORTMANN O. Antiestrogens modulate MT1 melatonin receptor expression in breast and ovarian cancer cell lines. *Oncol Rep* 2006; **15**: 231–235.
- [68] URBANA, MISZCZYK L. Rak jajnika – diagnostyczny i terapeutyczny problem ginekologii onkologicznej. *Współ Onkol* 2003; **7**: 294–300.
- [69] 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**: 567–573.
- [70] WUTMAN RJ, AXELROD J, CHU EW. Melatonin, a pineal substance: effect on the rat ovary. *Science* 1963; **141**: 277–288.
- [71] YIE SM, NILES LP, YOUNGLAI EV. Melatonin receptors on human granulosa cell membranes. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; **80**: 1747–1749.
- [72] YUAN L, COLLINS AR, DAI J, DUBOCOVICH ML, HILL SM. MT-1 melatonin receptor overexpression enhances the growth suppressive effect of melatonin in human breast cancer cells. *Mol Cell Endocrinol* 2002; **192**: 147–156.
- [73] ZHAO C, DAHLMAN-WRIGHT K, GUSTAFSSON JA. Estrogen receptor beta: an overview and update. *Nucl Recept Signal* 2008; **6**: e003.

Redaktor prowadzący – Michał Nowicki

Otrzymano: 10.11. 2010 r.

Przyjęto: 06. 12. 2010 r.

dr hab. Piotr Dziegiel, prof. nadzw.

*Katedra i Zakład Histologii i Embriologii Akademii Medycznej im. Piastów Śląskich,
ul. Chalubińskiego 6a, 50-368 Wrocław;*

e-mail: piotr@hist.am.wroc.pl