



## Melatonina, estrés y sistema inmune: aspectos de interés clínico

Muñoz Hoyos A<sup>1</sup>, Molina Carballo A<sup>1</sup>, Bonillo Perales A<sup>2</sup>, Valenzuela Ruiz A<sup>1</sup>, Uberos Fernandez J<sup>1</sup>, Contreras Chova F<sup>1</sup>, Narbona López E<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Pediatría. Universidad de Granada

<sup>2</sup> Hospital Torrecárdenas. Almería

La profusión de trabajos en los que se han relacionado los sistemas endocrino e inmune propició que Ader acuñase un nuevo término "Psico-neuroendocrinoinmunología" para referirse a una nueva disciplina en la que se incluyen conjuntamente aspectos psicológicos, endocrinos, neurológicos e inmunológicos. Por otra parte, la literatura más reciente viene haciendo hincapié acerca del posible papel de la glándula pineal y su producción hormonal mejor conocida, N-acetil-5-metoxi-triptamina, como una hormona estrechamente relacionada con el sistema inmune, generalmente como hormona reforzadora del sistema inmune, pero no faltan trabajos en los que se indican acciones a veces controvertidas como pueden ser su poder inhibitorio sobre los linfocitos T[1,2]. En cualquier caso la importante documentación aparecida durante los últimos años en la que se incluyen entre otros aspectos de interés:

- La capacidad para aumentar la respuesta de anticuerpos, la actividad de los linfocitos T-Helper, así como la producción de interleukina-2 tras la administración prolongada de melatonina[3],
- Aumento de la relación T-H/NK[4],
- aumento de la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos[5],
- Inducción de la maduración de los linfocitos[5], incremento de interleukina-2<sup>3</sup> y de  $\gamma$ -interferón[6], de la presentación de antígenos y de la producción de citocinas[7],
- En monocitos humanos la mejor actividad citotóxica y mayor producción de interleukinas-1 m-RNA[8], y
- el incremento del número de granulocitos-macrófagos formadores de unidades de colonias en médula[9];

obligan a describir los aspectos de mayor interés de estas interesantes relaciones. Para ello vamos a describir tres grandes apartados: en el primero resumiremos datos

datos experimentales y clínicos que ponen de manifiesto la relación entre glándula pineal y situaciones de estrés, en el segundo el papel inmunoreforzador de la melatonina y finalmente se hará una breve reseña de las relaciones conocidas entre glándula pineal y cáncer.

### RELACION ENTRE MELATONINA Y SITUACIONES DE ESTRÉS

En esta línea, se han realizado determinadas experiencias de laboratorio, las cuales se podrían resumir esquemáticamente bajo los siguientes términos: "Cuando las ratas son sensibilizadas mediante apropiadas manipulaciones ambientales, capaces de inducir una situación de estrés agudo, se observa como respuesta en el animal un aumento significativo de la síntesis y secreción de aMT, pretendiéndose explicar estas modificaciones hormonales a través de la aparición de determinados cambios en la sensibilidad pineal a las catecolaminas, características de la innervación simpática de la glándula pineal o niveles circulantes de catecolaminas".

Con independencia de estos comentarios procedentes de la experimentación animal, cuando nos referimos al niño, en función de los resultados obtenidos por Molina[10], Rodríguez[11], Martín[12] y Jaldo[13], y sin tomar en consideración ni el tipo de estímulo ni la intensidad del mismo podemos afirmar que la glándula pineal es sensible a diversos estímulos estresantes; dependiendo la característica de la respuesta obtenida (en el sentido de mayor o menor producción hormonal) de la clase de estímulo al que es sometida. Por tanto, y en consonancia con aportaciones de la literatura que confieren a la melatonina una acción reguladora o moduladora de desequilibrios internos, y

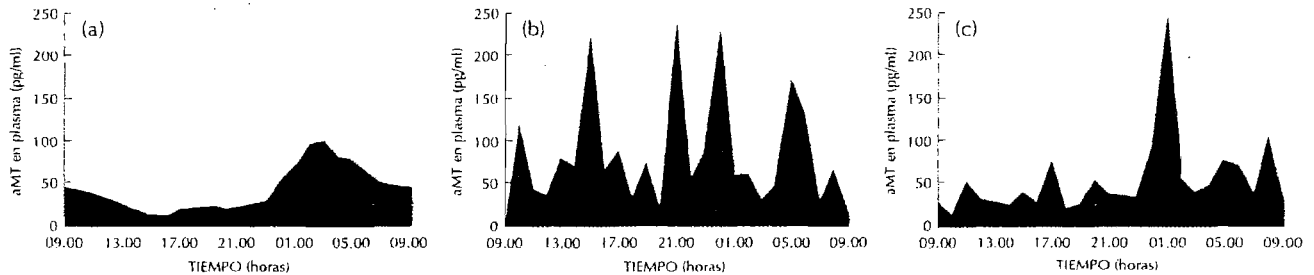


Fig. 1. Perfil de la secreción de aMT en tres grupos de niños: a) normales. B) tras una convulsión febril, en donde se puede apreciar unos niveles mucho mayores con total desaparición del ritmo de secreción y c) niños con convulsiones epilépticas. Donde se puede advertir la mayor producción de aMT tras una crisis convulsiva de tipo febril, mientras que en la crisis de tipo epiléptica la situación es intermedia a la ofrecida por los otros dos grupos. Molina Carballo A, Muñoz Hoyos A, Rodríguez Cabezas T, Acuña Castroviejo D. Day/night variations in melatonin secretion by pineal gland during febrile and epileptic convulsions in children. *Psychiat Res* 1993;273-283.

en consecuencia una cierta acción antiestrés, se puede afirmar que la existencia de una situación de sufrimiento fetal agudo, convulsión febril, convulsión epiléptica, intervención quirúrgica o traumatismo intenso, inducen una mayor producción de melatonina. Como otro aspecto de interés y por mecanismos de momento desconocidos, se pudo comprobar como el ritmo de secreción referido por estos autores en niños normales, se altera claramente en niños epilépticos y desaparece por completo en pacientes con convulsiones febriles[14], (Fig. 1). Modificaciones que en principio no es posible precisar si se corresponden con una variación propia de los mecanismos patogénicos que intervienen en el fenómeno o es expresión de la puesta en marcha de un mecanismo endógeno compensador[15]. De todas formas estos hechos pueden ser interpretados como una respuesta pineal inmediata para lograr el cese de la convulsión, por lo que se podría afirmar que además de la acción "reguladora de reguladores internos", la melatonina puede tener una acción directa sobre la excitabilidad neuronal como neurotransmisor inhibitor, y por tanto, entraría a formar parte de los mecanismos implicados en la génesis del periodo postictal refractario[16,17].

En la única experiencia pediátrica que conocemos,

la existencia de un estrés crónico como sucede con los niños que padecen un síndrome de carencia afectiva (SCA) se produce una menor secreción de melatonina (principal secreción hormonal de la glándula pineal) tanto en las determinaciones basales tomadas durante las primeras horas de la mañana[14], como en las nocturnas (Fig. 2).

Las diferencias encontradas entre los pacientes con SCA (tomado como ejemplo de estrés mantenido) y el resto de los grupos de estudio (todos ellos con la característica común de padecer un estrés agudo), sugieren que la glándula pineal, a semejanza de otros órganos y respuestas neuroendocrinas, decaen en su función y dan lugar a una menor respuesta hormonal[18]. Es difícil interpretar correctamente estos resultados pero siguiendo la lógica de respuesta organizada con tres fases bien diferenciadas (incremento, meseta y descenso), los resultados encontrados en el modelo de estrés crónico podrían representar un agotamiento o declinación en la respuesta pineal y en consecuencia una mayor susceptibilidad a múltiples "noxa"s o agresiones extrínsecas. Como ha sido referido en la literatura, la diferente respuesta encontrada entre grupos sometidos al mismo o distinto estímulo (traumatismos leves y graves, fiebre y convulsiones, grado de estrés quirúrgico e institucionalización), constitu-

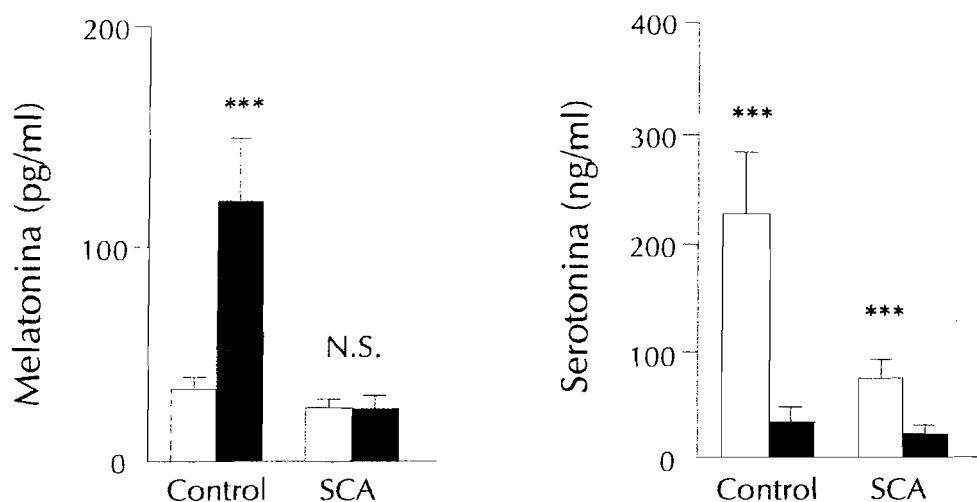


Fig. 2. Disminución de los niveles circulantes de aMT y serotonina en niños afectados de síndrome de carencia afectiva, tanto en determinaciones diurnas como en nocturnas en relación a niños normales de la misma edad y sexo. Contreras G. Tesis doctoral, Granada, 1998.

yen argumentos válidos para corroborar la hipótesis de la especificidad cauli/cuantitativa en el binomio "estímulo-respuesta pineal". Además y atendiendo a estas consideraciones parece evidente que la variable tiempo (para diferenciar momento horario) en el estudio de determinadas sustancias de producción endógena que siguen un patrón rítmico circadiano de secreción, debe tenerse en consideración si se quieren obtener conclusiones fiables acerca de las mismas o de sus efectos biológicos.

En relación a los recién nacidos y como ya se refiere en otro capítulo, la tasa media de aMT en vena umbilical es claramente superior a los valores encontrados en arteria, hecho que en principio puede ser explicado si se tienen en cuenta las especiales características de la circulación feto-placentaria y la facilidad para difundir por todos los fluidos orgánicos de la N-acetil-5-metoxi-triptamina. De todas formas y si tenemos en consideración que la vida media oscila en torno a los 20 minutos, habrá que aceptar necesariamente la existencia de una adecuada función pineal por parte del recién nacido[19-21].

Resulta difícil igualmente y a la luz de los conocimientos que actualmente se poseen poder explicar en términos bioquímicos o de mecanis-

mos fisiopatológicos el porqué de estas variaciones. De todas formas, consultada la literatura al respecto hay opiniones autorizadas como la de Reiter[22] que considera que los efectos de ciertas condiciones ambientales adversas son más complejos de lo que inicialmente se podría pensar, y no es válido asumir simplemente que las elevadas cantidades de catecolaminas adrenales o de otro origen puedan en situaciones de estrés estimular la producción de aMT.

En la misma línea Reiter, Parfitt y col[23] afirman que el exceso de catecolaminas en lugar de producir un estímulo sobre las terminaciones simpáticas pineales producirían su bloqueo impidiéndose de esta manera el efecto estimulante sobre el pinealocito. Teoría que en su inicio fue sustentada en base a la siguiente observación: "Al someter a un estrés físico (inmersión en agua) a un grupo de animales de laboratorio se comprobó que solamente aumentaba la actividad NAT si previamente se administró un inhibidor catecolamínico". Argumento que estaría en consonancia con las aportaciones de Craft[24] que igualmente demuestra una adecuada respuesta pineal a los estímulos catecolamínicos al mantener a un grupo de ratas bajo condiciones de luz constante, mecanismo capaz de

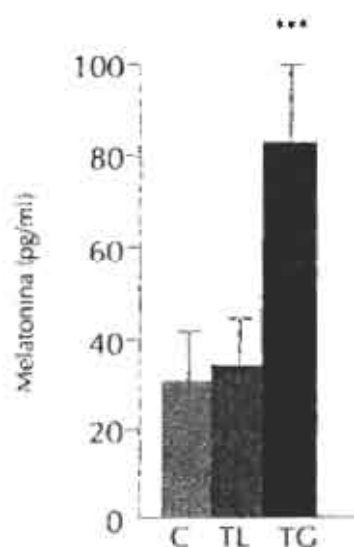


Fig. 3. La existencia de un traumatismo intenso (A), en relación a un grupo control (G-C), y otro con traumatismos leves, permite demostrar como a mayor grado de estrés se puede encontrar una mayor respuesta en la producción de aMT. Hernández Gómez MV: Estudio de la función pineal (tasas plasmáticas de aMT) en distintas situaciones de estrés en el niño. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, 1992.

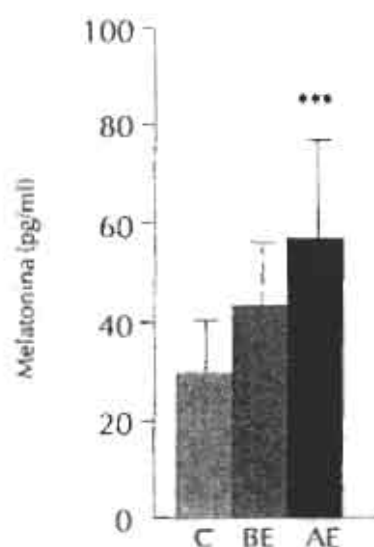


Fig. 4. La realización de una intervención quirúrgica con alto grado de estrés (GE-A) ofrece elevaciones significativas en las tasas de aMT en relación a un grupo control (G-C), y otr con intervenciones con bajo grado de estrés. Hernández Gómez MV. Estudio de la función pineal (tasas plasmáticas de aMT) en distintas situaciones de estrés en el niño. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, 1992.

aumentar la densidad de los  $\beta$ -receptores en la membrana de los pinealocitos. Otros estímulos estresantes como la inducción de hipoglucemia tras la administración de insulina o la inmovilización, inducen aumentos intensos de la actividad NAT pineal y presumiblemente de la síntesis de aMT. En cambio, esta respuesta no se observa cuando el hiperinsulinismo se debe a una alta ingesta de carbohidratos o cuando se han extirpado las glándulas adrenales, lo que sugiere que algún factor de origen adrenal, presumiblemente las catecolaminas son los mediadores responsables del proceso.

Por otra parte, Champney y col[25] demostraron que tanto la inmovilización como la hipoglucemia diurna, inmersión en agua fría, ruidos, cambios en las condiciones ambientales, frío, etc. producían en la rata y durante las horas diurnas un aumento significativo, superior incluso al 50% en la actividad NAT pineal y por consiguiente en la producción pineal de aMT. En cambio, en el hámster sirio se ha observado que estos estímulos se asocian con un

aumento de catecolaminas plasmáticas y un descenso de la actividad pineal de la HIOMT y del contenido de aMT. Trabajos que inducen a pensar que la respuesta pineal en ratas y hámster a las catecolaminas circulantes son muy diferentes, de manera que cabe esperar tras la administración exógena durante el día de isoproterenol o NE, el estímulo pineal en la rata y no en el hámster sirio[26,27]. Otro aspecto distinto es la consideración de analizar la proporción en la respuesta pineal en relación al estímulo, y como hemos podido comprobar en distintos modelos (neuroológico, quirúrgico, etc.) a mayor grado de estrés se va a producir una mayor intensidad en la respuesta glandular (Fig.3).

Durante la noche, los resultados obtenidos en la función pineal tras un estímulo estresante agudo, varían según la referencia. Joshy y col[28] observaron que la inyección de suero salino durante la noche (periodo de máxima actividad pineal) produce un descenso brusco de NAT y en consecuen-

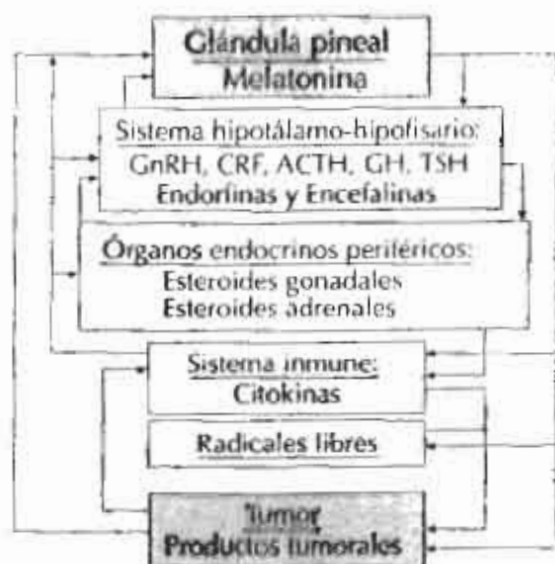


Fig. 5. Representación esquemática de las relaciones entre melatonina y sistema inmune. Karasek M. Relationship between the pineal gland and experimentally induced malignant tumors. *Front Horm Res* 1997;23:99-106

cia de aMT, recuperándose la normalidad de ambos parámetros a los 15-20 minutos del estímulo. Cambios claramente mediados por las glándulas adrenales, puesto que tales efectos se pueden evitar si antes se realiza en el animal de experimentación una extirpación de las glándulas adrenales. Más recientemente, se ha observado que la inmersión en agua de un grupo de ratas durante el transcurso de las horas nocturnas conduce a una brusca disminución de los niveles pineales de aMT, recuperables igualmente tras un lapso de tiempo de 15-20 minutos, permaneciendo elevada en todo momento la actividad de la NAT. Variaciones que a diferencia de la experiencia anterior no pueden ser evitadas con la adrenalectomía previa.

Como sucede con la experimentación animal, los trabajos desarrollados en humanos son hasta cierto punto contradictorios o al menos no comparables. Vaughan[29] revisa varias experiencias en las que después de la aplicación de diversas dosis de electroshock a pacientes con trastornos depresivos no se alteran los niveles plasmáticos de aMT, aunque hay que recordar que en base a la teoría indoleamínica de la depresión en este tipo de pacientes habría que tener en cuenta no sólo la variable eléc-

trica sino además las típicas modificaciones que se describen en el metabolismo de la serotonina a nivel central[30]. Por otra parte, se ha señalado que la hipoglucemia inducida por insulina y la pneumoencefalografía desarrolladas durante las horas diurnas no producen respuesta pineal evidenciable, mientras que sí se puede demostrar un claro aumento en las tasas de cortisol, prolactina y hormona de crecimiento.

En otra experiencia se pudo comprobar como tras la realización de un ejercicio intenso, individuos no entrenados experimentan un aumento significativo en las tasas de cortisol y de hormona de crecimiento pero no de aMT. Finalmente Akerstedt y col[31] tras provocar un estímulo psíquico estresante durante distintos momentos del día (mañana, tarde y noche) a varios individuos sanos, no refieren modificaciones en la eliminación urinaria de aMT y sí en cambio en los mismos indicadores bioquímicos referidos en las experiencias anteriores.

Como se puede apreciar, las aportaciones referidas son difícilmente comparables debido a la diversidad de estímulos y la heterogeneidad de las muestras estudiadas. Por otra parte conviene recordar que el concepto de trauma psíquico ya fue definido por Freud en 1893, como una sobrecarga de excitación producida por una experiencia de la que resultan alteraciones en la distribución de la energía psíquica. La relación del trauma psíquico con el estrés resulta evidente, pudiendo considerarse traumático todo estímulo que exige un esfuerzo desacostumbrado de los mecanismos de defensa, o lo que es igual, que provoca el desencadenamiento de una reacción psicológica.

Lo que está claro es que el organismo se encuentra en un continuo proceso de adaptación a las exigencias de su medio y de su propio desarrollo, y en el caso de los niños, parece ser que una cierta dosis de estrés es necesaria incluso para que el desarrollo proceda con normalidad, si bien, cuando el comportamiento del niño se vuelve difícil es posible que esté reaccionando a circunstancias ambientales que desbordan su capacidad de adaptación[32]. Un niño es capaz de enfrentarse a un considerable estrés psicológico cuando recibe apoyo afectivo de

sus padres o de otros adultos que los sustituyan, pero si adolecen de este tipo de relación afectiva, la más leve contrariedad puede transformarse en un intenso estrés. En el caso de los niños con un SCA es evidente que este tipo de relación afectiva se va a ver fuertemente disminuida, siendo numerosos los autores que hacen hincapié en el hecho de la separación materna como causa de perturbaciones emocionales y afectivas[33].

En este orden de ideas Jiménez Tallón[32] ha elaborado un estudio en un grupo de niños institucionalizados en el que se valora la intensidad del estrés al que están y han estado sometidos, desarrollando un análisis comparativo entre los distintos grupos y concluyendo como resultado final de su experiencia, que a mayor estrés se produce rápidamente un menor rendimiento intelectual, así como una relación clara y estrecha entre estrés psicosocial y trastornos emocionales y conductuales, como son la inadaptación, la presencia de otros hermanos en el centro y una relación familiar desfavorable. Según hemos podido comprobar al revisar la literatura al respecto, en el SCA es necesario incluir como causa de los trastornos que describimos por una parte la "*deprivación materna*" y por otra la institucionalización con sus circunstancias y consecuencias, aspectos que han de considerarse como independientes, pero de presencia simultánea en el grupo humano que referimos[34-37].

Como antes mencionábamos, los resultados obtenidos en relación a la tasa de aMT en los niños sometidos a un estrés mantenido son difícilmente explicables en función de los argumentos que hasta ahora se han venido comentando, aunque hay matices diferenciales que por otra parte no hacen comparables las experiencias que se aportan con otras de la literatura: a) Por una parte, nos encontramos con una población infantil sometida de forma continuada (crónica) a un estrés psíquico. b) En segundo lugar y si tenemos en consideración la teoría indolamínica de la depresión, es posible que el estado de aislamiento y depresión en que estos pacientes se ven envueltos, de alguna forma colabore a que la pineal decline en su función de ajuste y sincronización.

## RELACIÓN ENTRE MELATONINA Y SISTEMA INMUNE

La primera aportación de interés corresponde a Maestroni, que observó como al realizar una pinealectomía a animales de laboratorio, su glándula tímica experimentaba una considerable reducción, con lo que se abrió un interesante campo de investigación que en el transcurso de los años posteriores tendría frutos importantes. Más tarde el mismo grupo de Maestroni[38] realizó un experimento aún más contundente y con tanta trascendencia como el anterior, utilizando un modelo experimental con animales de laboratorio, inyectaron el virus de la encefalomiocarditis a un grupo de ratones, mientras que a un segundo grupo se le inyectó previamente melatonina. Con posterioridad se sometió a ambos grupos a un tipo de estrés controlado, exactamente la misma cantidad del agente microbiano (dosis subletal) y el mismo estrés (en términos cualitativos y cuantitativos). El resultado de esta experiencia fue sorprendente puesto que al final del experimento encontraron que: a) Los ratones tratados con melatonina vivían en su gran mayoría, (murió sólo el 6%). b) Mientras, entre los no tratados fallecieron más del 80%, y de estos a su vez un importante número murieron ya en el transcurso de la primera semana del experimento.

Por otra parte, Caroleo y col en 1992 pusieron de manifiesto igualmente en un trabajo de laboratorio el denominado efecto "*booster*" para melatonina, consistente en su capacidad para elevar la respuesta mediada por anticuerpos. En concreto administraron antígenos procedentes de hematías de caballo a dos grupos de ratones, pero a uno de ellos se les administró además melatonina. En ambos, como era de esperar, hubo producción de anticuerpos específicos frente a los antígenos administrados, pero en los que habían recibido melatonina el nivel de anticuerpos producidos era más del doble que los del otro grupo.

En un ensayo clínico realizado por Neri y col[39], administraron melatonina (10 mg/día, durante un mes) a 33 pacientes con tumores sólidos, tratados además con los protocolos específicos de los mismos (radioterapia, quimioterapia, y cirugía), como



sabemos con importantes connotaciones de estrés y depresión del sistema inmune, encontrando que: 1) La interleukina-2 elevó sus niveles en más del 50%. 2) El factor de necrosis tumoral ascendió casi un 30% y 3) El  $\gamma$ -interferón se elevó igualmente más de un 40%. Mediadores todos ellos de gran importancia para el normal funcionamiento del sistema inmune.

En las personas de edad avanzada, las posibilidades de contraer cáncer o una enfermedad infecciosa aumentan notablemente en relación a los jóvenes, siendo uno de los argumentos que participa en este proceso el fenómeno del envejecimiento, la disminución de la respuesta al estrés, y por supuesto la ineficacia del sistema inmunológico. En la actualidad a estos factores hay que añadirle el papel desarrollado por la melatonina, la cual, como se ha comentado en varios capítulos, disminuye con la edad y además esta íntimamente relacionada con los factores anteriormente citados. En este sentido Ben-Nathan y col[40] demostraron como en los animales de laboratorio el papel inmunoreforzador de la melatonina era más eficiente en animales viejos; en su experiencia demuestra además que la producción de una encefalitis viral (normalmente letal) puede prevenirse en el 56% de los ratones viejos tratados con melatonina y sólo en el 39% de los ratones jóvenes no tratados.

Entre otros aspectos de interés se ha comunicado que la melatonina es capaz de elevar las cifras de Ig A secretora. Muchos de sus efectos los realiza a partir de sus relaciones con los linfocitos T-helper[41], en los que Maestroni y Conti demostraron la existencia de receptores para melatonina, y partiendo de este mecanismo inicial se van a ir produciendo con posterioridad otros acontecimientos importantes como son: a) El estímulo de la producción de interleukina-4, la cual a su vez estimulará a otro grupo de factores inmunes. Un esquema elemental de estas interrelaciones se representa en la (Fig.- 4). b) Como se puede apreciar en la figura, los linfocitos "natural killer" (NK), están directamente relacionados con la interleukina-4 y los linfocitos T-helper, afirmación que se ha visto avalada además por experiencias en humanos habiéndose comprobado como un grupo de jóvenes que había toma-

do 2 mg de melatonina durante dos meses, hizo que los elementos celulares de esta estirpe (NK) aumentasen hasta el 240%. c) Por otra parte, Morray y col[42] comprobaron "in vitro" que los monocitos humanos tratados con aMT eran capaces de aumentar su poder fagocítico frente a cierto tipo de células cancerosas hasta en un 73%. d) Nuevamente Maestroni y Conti[41] en un interesante trabajo publicado en Journal Pineal Research demostraron como la melatonina es capaz de potenciar el crecimiento celular en la médula ósea. e) Además otros trabajos han indicado asimismo que la melatonina directa o indirectamente facilitará el aumento de los "factores estimulantes de granulocitos/macrófagos".

## MECANISMOS DE INMUNOMODULACIÓN DE LA MELATONINA

Los mecanismos a partir de los cuales la melatonina es capaz de modular el sistema inmune no son conocidos con precisión, pero basados en experiencias muy diversas se han sugerido los siguientes[43]: a) Mediante la relación entre glándula pineal, sistema inmune y sistema opioide endógeno. Se ha comunicado que determinados péptidos opioides pueden ser mediadores de la acción de la melatonina sobre el sistema inmune[44-46]. De hecho, el efecto estimulante inmune y protector antiestrés de la aMT fue abolido por la administración de naltrexona, antagonista opioide específico[47,48]. A su vez la dinorfina 1-13 y  $\beta$ -endorfinas son capaces de reproducir los efectos inmunológicos de la melatonina[49,50]. La melatonina también estimula la liberación de péptidos opioides por los linfocitos T-Helper activados [51]. b) Las linfocinas como mediadores de la acción de la melatonina sobre el sistema inmune. La demostración de que tanto la producción de interleukina-2, como  $\gamma$ -interferón es estimulada por melatonina[3], así como el conocimiento de que ambos productos a su vez actúan estimulando la actividad de los NK y otros elementos del sistema inmune[52], han hecho que se especule sobre la posibilidad de que estas linfocinas sean mediadoras de los efectos observados con la melatonina sobre la respuesta inmune[53]. c) Acciones indi-



rectas de la melatonina a través de otros sistemas endocrinos. Se ha sugerido que el eje hipotálamo-hipofiso-gonadal puede estar relacionado con la acción que la melatonina tiene sobre el sistema inmune[54] en base a experiencias que demuestran que tanto el fotoperiodo como el tratamiento con melatonina afecta conjuntamente la capacidad reproductora, producción de hormonas sexuales y determinadas funciones inmunes[55,56]. Además, es bien conocido como la melatonina es capaz de antagonizar el efecto supresor de los corticosteroides sobre el sistema inmune[57,58]. Asimismo se ha sugerido que el timo puede ser un órgano clave para la interacción inmunomoduladora existente entre melatonina y corticosteroides[59]. Por otra parte, la melatonina posee capacidad para estimular la liberación de TRH, la cual tiene efectos claros sobre la actividad antiviral y otros aspectos funcionales del sistema inmune, y en consecuencia se ha indicado como otro posible intermediario entre melatonina y sistema inmune[60]. d) Acción directa de la melatonina sobre el tejido linfóide. Diferentes trabajos han demostrado que con <sup>125</sup>Iodo-melatonina se demuestran "binding sites" en homogenados de órganos linfoides de aves y mamíferos[61], esplenocitos de ratas[62], linfocitos humanos[63], neutrófilos[64], así como T-helper[41]. Estas evidencias y la conocida liposolubilidad de la melatonina (lo que la hace especialmente fácil de introducirse en el sistema linfático) hacen que se acepte el efecto directo de la melatonina sobre el tejido linfóide. e) Acción neutralizadora de radicales libres[65]. La alta reactividad de los radicales libres les hace muy peligrosos, con capacidad para dañar tanto las macromoléculas como los elementos celulares; en este sentido, como ha sido suficientemente referido, la melatonina es un potente neutralizador de radicales libres.

## MELATONINA Y CRECIMIENTO TUMORAL

La primera sugerencia que relacionó la glándula pineal con el crecimiento tumoral[66] data de 1929, pero en realidad los progresos e interés sobre el tema se han producido en las dos últimas décadas. La mayoría de los trabajos hablan de una acción oncostática de la pineal, especialmente por

su principal hormona melatonina. Con independencia de la aportación anteriormente mencionada, probablemente el autor que centró la atención de la comunidad científica en relación a este aspecto funcional de la melatonina fue Tamarkin y col[67]. Este autor, entre otros trabajos, relata los resultados obtenidos tras la provocación con DMBA de tumores de mama en ratas y su posible prevención con melatonina. Posteriormente Blask[68] en 1986 estudió el efecto de la aMT sobre el crecimiento de una línea celular de alta malignidad en mujeres (MCF-7), apareciendo en los últimos años un considerable número de trabajos tanto experimentales como clínicos en los que se intenta definir el papel de la melatonina en la patología tumoral. En este sentido, no hemos encontrado de momento ninguna referencia pediátrica.

Experimentalmente hay evidencias que indican que tanto la pinealectomía como la administración de melatonina se relacionan con el crecimiento de tumores malignos[68-69], recogiendo como referencias de mayor interés:

- a) Efecto de la pinealectomía: Sobre el crecimiento tumoral ha sido referido en los siguientes tipos de tumores: sarcomas[70], carcinoma Walker[71], melanoma MMI[72], melanoma inducido por dimetilbenzantraceno[73], carcinoma ovárico[74], tumor de Ehrlich[75], tumor Yoshida[76], carcinoma de mama inducido por NMU[77], fibrosarcoma inducido por MCA[78], epiteloma Guerin[79] y hepatocarcinoma inducido por dietilaminobenceno[80].
- b) Administración de melatonina "in vivo": La administración de melatonina se ha mostrado efectiva en los siguientes tipos de tumores: Leucemia inducida por LSTRA[81], carcinoma de mama R3290AC[82], carcinoma de mama inducido por DMBA[83], melanoma B16[84], prolactinoma inducido por DES[85], adenocarcinoma prostático R3327H[86], carcinoma mamario inducido por NMU[87], hepatoma Kirkman-Robbins[88], epiteloma Guerin[80], carcinoma espontáneo de mama C<sub>3</sub> CF<sub>1</sub>[89] y carcinoma mamario espontáneo C<sub>3</sub>H/Jax[90].





Por otra parte se han descrito otro tipo de tumores en los que la melatonina no ejerce ninguna influencia, e incluso otros en los que el efecto inhibitorio se va a desarrollar cuando se administran dosis concretas o incluso cuando la melatonina se administra en cierto momento del día[91,92].

c) Efecto de melatonina "in vitro": La melatonina se ha visto capaz de inhibir los siguientes tumores: melanoma B7[93], cáncer de pulmón MCF-7[94], el prolactinoma inducido por DES[95], carcinoma de ovario SK-OV-3 [96], la línea del carcinoma ovárico JA-1[96], el linfoma de células T Jurkak[97] carcinoma de cervix 180[98], sarcoma S180, coriocarcinoma JAR[99], carcinoma mamario C-19[100], carcinoma de células laríngeas Hep-2 [101] y el melanoma M2R [102].

A pesar de estas interesantes aportaciones la situación actual no permite que en un lapso de tiempo corto la melatonina vaya a ser introducida en los protocolos de tratamiento del cáncer; en cambio, es fácil intuir por estas evidencias que juega un papel importante y que será necesario profundizar en su estudio para poder definir con rigor el papel que puede desempeñar en el tratamiento del cáncer.

## MECANISMOS DE ACCIÓN ONCOSTÁTICO DE LA MELATONINA

El papel oncostático de la melatonina puede ser explicado por diversos mecanismos, destacando como aspectos de mayor interés[103]: a) Un efecto celular directo, que incluiría: modulación de la vía estrogénica, efectos directos sobre ciclos celulares, influencia sobre ciertos factores de crecimiento, interacción con calmodulina y tubulina y aumento de las zonas de comunicación intercelular. b) Acción indirecta como antioxidante, en este sentido hay suficientes referencias que explican esta acción y su potencial papel protector. c) Acción indirecta a través de una inmunoestimulación, mecanismo que ya ha sido referido con anterioridad. Junto a estos aspectos de interés se han descrito incluso trastornos en la producción de melatonina en pacientes con cáncer, tanto en la secreción

nocturna como en su ritmicidad.

Probablemente las diferencias encontradas por algunos autores en los resultados que refieren puedan deberse a razones tan variadas como las diferentes especies animales empleadas, los modelos de tumores, el que sean estudios in vivo o in vitro, diferencias en el modo y momento en el que se administra melatonina, diferentes métodos de medida del tumor, y diversidad de fotoperíodos empleados en el experimento.

Actualmente ya se han realizado varios ensayos clínicos con melatonina en pacientes con cáncer y en principio aunque seamos escépticos, las evidencias existentes recomiendan que se continúe trabajando en esa línea hasta que se pueda definir con mayor precisión el papel que puede jugar este metoxi-indol en la patología tumoral. Finalmente, queremos volver a mencionar que a pesar de la importante documentación aparecida en estos años, tampoco hemos encontrado trabajos relativos a la infancia.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Artz EA, Fernandez-Castello S, Finocchiaro LME, Criscuolo ME, Diaz A, Finkielman S, Nahmod VE. Immunomodulation by indoleamines: Serotonin and melatonin action on DNA and interferon-g synthesis by human peripheral blood mononuclear cells. *J Clin Immunol* 1988;8:513-520.
2. Persengiev SP, Kyurchiev S. Selective effect of melatonin on the proliferation of lymphoid cells. *Int J Biochem* 1993;3:441-444.
3. Caroleo MC, Frasca D, Nistico G, Doria G. Melatonin as immunomodulator in immunodeficient mice. *Immunopharmacology* 1992;23:81-89.
4. Lissori P, Morabito F, Esposti G, Esposti D, Ripamonti G, Fraschini F. A study on the thymus pineal axis: Interactions between thymic hormones and melatonin secretion. *Acta Med Auxol* 1988;20:35-39.
5. Giordano M, Palermo MS. Melatonin-induced enhancement of antibody dependent cellular cytotoxicity. *J Pineal Res* 1991;10:117-121.
6. Muscettola M, Grasso G, Fanetti G, Tanganelli C, Borghesi-Nicoletti C. Melatonin and modulation of interferon- $\gamma$  production. *Neuropeptides* 1992;22:46.
7. Pioli C, Caroleo MC, Nistico G, Doria G. Melatonin increases antigen presentation and amplifies specific and non specific signals for T-cell proliferation. *Int J Immunopharmacol* 1993;15:463-468.

8. Morrey KM, Mc Lachlan JA, Serkin CD, Bakaouche O. Activation of human monocytes by the pineal hormone melatonin. *J Immunol* 1994;153:2671-2680.
9. Maestroni GJ. T-helper-2 lymphocytes as a peripheral target of melatonin. *J Pineal Res* 1995;18:84-89.
10. Molina Carballo A. Glándula pineal y trastornos convulsivos en el niño: interrelaciones neuroendocrinas en función del ritmo circadiano. Tesis Doctoral, Granada, 1989.
11. Rodríguez Cabezas T. Función pineal, ritmos circadianos y estrés: Interrelaciones y estudio comparativo entre recién nacidos normales, pretérmino y con sufrimiento fetal agudo. Tesis Doctoral, Mayo, 1990. ISBN: 84-338-1313-7. Depósito Legal GR-198 / 1991.
12. Martín Medina E. Diagnóstico de salud y valoración de la función pineal en un grupo infantil sometido a una situación de estrés mantenido. Tesis Doctoral, Granada, 1990.
13. Jaldo Alba F. Contribución al estudio de la cronobiología neonatal: Valoración circadiana de la función pineal durante los tres primeros días de vida. Tesis Doctoral, Granada, 1992.
14. Muñoz A, Acuña D, Martín E, Palmero G, Molina A, Rodríguez T. Pituitary neuropeptides ACTH and  $\beta$ -endorphin in the failure to thrive syndrome. *J Endocrinol Invest*, 1989; 12 (suppl 2-5): 168.
15. Molina A, Acuña D, Rodríguez T, Muñoz A. Melatonin circadian rhythm in normal children and in children with febrile and epileptic convulsions. *J Endocrinol Invest*, 1989; 12 (suppl 2-5): 102.
16. Molina A, Muñoz A, Rodríguez T, Acuña D, Moreno F, Ruiz C. Interaction between duration of convulsion, refractory postseizure period and melatonin levels. *Neuroendocrinology*, 1990; 52 (suppl 1): 102.
17. Muñoz A, Molina A, Rodríguez T, Acuña D, Sánchez M, Jaldo F. Circadian secretion of melatonin in normal children, with febrile and epileptic seizures. *Neuroendocrinology*, 1990; 52 (suppl 1): 102.
18. Moreno F, Martín E, Muñoz A, Molina A, Rodríguez T, Palmero G. Assessment of pineal function in the non organic failure to thrive syndrome. *J Endocrinol Invest*, 1991; 14 (suppl 9): 200.
19. Rodríguez T, Molina A, Muñoz A, Palmero G, Narbona E, Molina Font JA. Assessment of pineal function in acute stress situations in childhood. *Neuroendocrinology*, 1990; 52 (suppl 1): 103.
20. Muñoz A, Rodríguez T, Molina A, Palmero G, Jaldo F, Sempere JJ. Evaluation of pineal function (aMT levels) in normal, preterms and newborns with acute fetal distress. *J Endocrinol Invest*, 1991; 14 (Suppl. 9): 201.
21. Rodríguez T, Narbona E, Valenzuela A, Molina JA. Evaluation of circadian rhythm of melatonin levels in newborns with acute fetal distress. *J Endocrinol Invest*, 1991; 14 (Suppl. 9): 200.
22. Reiter RJ. The pineal and its indole products: Basic aspects and clinical applications. In Cohen MP, Foa PP (eds): *The brain as an endocrine organ*. *Endocrinol & Metabolism* (vol 3). Springer-Verlag, New York, 1989: 97-149.
23. Parfitt AG, Klein DC. Sympathetic nerve endings in the pineal gland protect against acute stress-induced increase in N-acetyltransferase activity. *Endocrinology* 1976; 99: 840-851.
24. Craft CM, Morgan WW, Reiter RJ. 24-hour changes in catecholamine synthesis in rat and hamster pineal gland. *Neuroendocrinology*, 1983; 38: 193-198.
25. Champney TH, Steger RJ, Christie DS. Alterations in components of the pineal melatonin synthetic pathway by acute insulin stress in the rat and Syrian hamster. *Brain Res* 1985; 338: 25-32.
26. Lurch HJ, Ho M, Wurtmann RJ. The adrenal medulla may mediate the increase in pineal melatonin synthesis induced by stress but not that caused by exposure to darkness. *J Neural Transm* 1977; 40: 87-97.
27. Vaughan GM, Taylor TJ, Pruit BA, Mason AD. Pineal function in burns: melatonin is not a marker for general sympathetic activity. *J Pineal Res* 1985;2:1-12.
28. Joshi BN, Troiani ME, Milin J, Nurenburger F, Reiter RJ. Adrenal-Mediated depression of N-acetyltransferase activity and melatonin levels in the rat pineal gland. *Life Sci* 1986; 38: 1573-1580.
29. Vaughan GM. Melatonin in humans. *Pineal Res Rev* 1984;2:141-201
30. McIntyre IM, Oxenkrug GF. Electroconvulsive shock: effect on pineal and hypothalamic indoles. *J Pineal Res* 1984; 1: 273-279.
31. Akerstöd T, Froberg JE, Friberg Y, Wetterberg L. Melatonin excretion, body temperature and subjective arousal during 64 hours of sleep deprivation. *Psychoneuroendocrinol* 1979;4:219-225.
32. Jiménez Tallón MA. Estudio del estrés psicosocial en una muestra de niños institucionalizados *Anal Psiquiat* 1982;4:193-197.
33. Ajurriaguerra J, Marcelli D. *Manual de psicopatología del niño*. Masson, Barcelona, 1982.
34. Bowlby J. *Maternal care and mental health*. Monografía OMS, Ginebra, 1951.
35. Jiménez Tallón A. Valoración de la institucionalización y otros factores psicosociales. Tesis Doctoral, Universidad de Murcia, 1986.
36. Mardomingo MJ. *Institucionalización y deterioro de la conducta en el niño*. Cuadernos de Acción Social Menores Marginados, 1982; 9.
37. Chase HP, Martin HP. Undernutrition and child development. *N Eng J Med* 1970;282:933-939
38. Mestroni GJ, Conti A., Pierpaoli W. Pineal melatonin, Its fundamental immunoregulatory role in aging and cancer. *Ann NY Acad Sci* 1988;521:140-148.
39. Neri B, Brocchi A, Cagnoni M. Effects of melatonin administration on cytokine production in patients with advanced solid tumors. *Oncol Rep* 1995;2:45-47
40. Ben-Nathan D, Maestroni GJ, Conti A. Protective effects of melatonin in mice infected with encephalitis viruses. *Arch Virol* 1995;140:223-230



41. Maestroni GJ. T-Helper-2 lymphocytes as peripheral target of melatonin signaling. *J Pineal Res* 1995;18:84-89
42. Morrey KM, Mc Lachlan JA, Bokouche O. Activation of human monocytes by the hormone melatonin. *J Immunol* 1994;153:2671-2680
43. Poon AMS, Pang SF. Pineal melatonin-Immune system interaction. In Tang PL, Pang SF and Reiter RJ (eds): *Melatonin: A universal photoperiodic with diverse actions*. *Front Horm Res* 1997;21.
44. Maestroni GJM. The immunoneuroendocrine role of melatonin. *J Pineal Res* 1993;14:1-10.
45. Maestroni GJM, Conti A. Melatonin and immune system. In Touitou Y, Arendt J, Pevet P (eds): *Melatonin and the pineal gland: From basic science to clinical application*. Amsterdam Excerpta Médica, 1992:295-302.
46. Maestroni GJM, Conti A. Melatonin in relation to the immune system. In Yu HS, Reiter RJ (eds): *Melatonin: Biosynthesis, physiological effects and clinical applications*. Boca Raton, CRC Press, 1992:289-310
47. Maestroni GJM, Conti A, Pierpaoli W. Role of the pineal gland in immunity. II. Melatonin enhances the antibody response via an opiate mechanism. *Clin Exp Immunol* 1987;68:384-391
48. Maestroni GJM, Conti A, Pierpaoli W. The pineal gland and the circadian opiate immunoregulatory role of melatonin. *Ann NY Acad Sci* 1987;496:67-77
49. Maestroni GJM, Conti A, Pierpaoli W. Role of the pineal gland in immunity. III. Melatonin antagonizes the immunosuppressive effect of acute stress via an opiate mechanism. *Immunology* 1988;63:465-469
50. Maestroni GJM, Conti A. Beta-endorphin and dynorphin mimic the circadian immunoenhancing and anti-stress effects of melatonin. *Int J Immunopharmacol* 1989;11:333-340
51. Maestroni GJM, Conti A. The pineal neurohormone melatonin stimulates activated CD4+, Thy-1+ cells to release opioid agonist(s) with immunoenhancing and anti-stress properties. *J Neuroimmunol* 1990;28:167-176
52. Saksela E, Timonen T. Cellular interactions in the augmentation of human NK activity by interferon. *Ann NY Acad Sci* 1980;350:102-111
53. Kuribayashi K, Grillis S, Kern DE, Henney CS. Murine NK cell culture: Effects of interleukin-2 and interferon on cell growth and cytotoxic reactivity. *J Immunol* 1981;126:2321-2327
54. Nelson RJ, Demas GE, Klei SL, Kriegsfeld LJ. The influence of season, photoperiod, and pineal melatonin on immune function. *J Pineal Res* 1995;19:149-165
55. Vaughan MK, Hubbard GB, Chmney GM, Vaughan GM, Little JC, Reiter RJ. Splenic hypertrophy and extramedullary haematopoiesis induced in male Syrian hamsters by short photoperiod or melatonin injection and reversed by melatonin pellets or pinealectomy. *Am J Anat* 1987;179:131-136
56. Brainard GC, Watson-Whitmeyer M, Knobler RL, Lublin FD. Neuroendocrine regulation of immune parameters: Photoperiod control of the spleen in Syrian hamsters. *Ann NY Acad Sci* 1988;540:704-706
57. Aoyama H, Mori W, Nori N. Anti-glucocorticoid effects of melatonin in adult rats. *Acta Pathol Jpn* 1987;37:1143-428
58. Aoyama H, Mori W, Nori N. Anti-glucocorticoid effects of melatonin in young rats. *Acta Pathol Jpn* 1986;36:423-428
59. Persengiev S, Patchev V, Velev B. Steroid hormone receptors in the thymus: A site of immunomodulatory action of melatonin. *Int J Biochem* 1991;23:1483-1485
60. Pierpaoli W, Yi C. The involvement of pineal gland and melatonin in immunity and aging: Thymus mediated immunoreconstituting and antiviral activity of thyrotropin-releasing hormone. *J Neuroimmunol* 1990;27:99-109
61. Pang SF, Yuan H, Yu ZH, Wang XL, Tang PL, Yau M. Melatonin binding sites in the nervous and immune systems. In Fraschini F, Reiter RJ (eds): *Role of melatonin and pineal peptides in neuroimmunomodulation*. New York, Plenum, 1991:107-116
62. Rafiield-Idrisi M, Calvo JR, Pozo D, Harmouch A, Guerrero JM. Specific binding of 2[125]-iodomelatonin by rat splenocytes: Characterization and its role on regulation of cyclic AMP production. *J Neuroimmunol* 1995;57:171-178
63. Lopez-Gonzalez MA, Calvo JR, Osuna C, Rubio A, Guerrero JM. Interaction of melatonin with human lymphocytes: Evidence for binding sites coupled to potentiation of cyclic AMP stimulated by vasoactive intestinal peptide and activation of cyclic GMP. *J Pineal Res* 1992;12:97-104
64. Lopez-Gonzalez MA, Calvo JR, Segura JJ, Guerrero JM: Characterization of melatonin binding sites in human peripheral blood neutrophils. *Biotechnol Ther* 1993;4:253-262
65. Reiter RJ, Lei Tang, Garcia J, Muñoz-Hoyos A. Pharmacological actions of melatonin in free radical pathophysiology. *Life Sci* 1997;
66. Georgiou E. Über die natur und pathogenese der krebstumoren. *Z Krebsforsch* 1929;28:562-572
67. Tamarkin L, Cohen M, Chabner B. Melatonin inhibition and pinealectomy enhancement of 7,12-Dimethylbenzanthracene-induced mammary tumors in the rat. *Cancer Res* 1981;41:4432-36
68. Blask DE. The pineal: An oncostatic gland. In Reiter RJ (ed): *The pineal gland*. Raven, New York, 1984:253-284
69. Reiter RJ. Pineal gland, cellular proliferation and neoplastic growth: An historical account. In Gupta D, Attanasio A, Reiter RJ (eds): *The pineal gland and cancer*. Brain Res Promotion, London, 1988:41-64.
70. Nakatani M, Ohara Y, Katarigi E, Nakona R. Studies on the pinealectomized white rat. *Nippon Biorigakkai Kaishi* 1940;30:232-236
71. Rodin AE. The growth and spread of Walker 256 carcinoma in pinealectomized rats. *Cancer Res* 1963;23:1545-1550.
72. Das Gupta TK, Terz J. Influence of the pineal gland on growth and spread of melanoma in the hamster. *Cancer Res* 1967;27:1306-1311.
73. Aubert C, Prade M, Bohuon C. Effect de la pinealectomie sur les tumeurs melaniques du hamster dore induites par l'admi-

- nistration (per os) d'une seule dose de 9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene. *CR Acad Sci* 1970;271:2465-2468.
74. Das Gupta TK. Influence of the pineal gland on the growth and spread of malignant tumors. *Surg Forum* 1968;19:83-84.
75. Billitieri A, Bandoni M. Accrescimento e moltiplicazione cellulare del tumore di Ehrlich nel topo, dopop aspotrazione della thiandola pineale. *Boll Soc Ital Biol Sper* 1969;45:1647-1650.
76. Lapin V. Influence of simultaneous pinealectomy and thymectomy on the formation of metastases of the Yoshida sarcoma in rats. *Exp Pathol* 1974;9:108-112.
77. Blask DE, Hill SM, Pelletier DB. Oncostatic signalling by the pineal gland and melatonin in the control of breast cancer; in Gupta D, Attanasio A, Reiter RJ (eds): *The pineal gland and cancer*. Brain Res Promotion, London, 1988:195-206.
78. Barone RM, Abe R, Das Gupta TK. Pineal ablation in methylcholanthrene-induced fibrosarcoma. *Surg Forum* 1972;23:115-116.
79. Lewinski A, Sewerynek E, Wajs E, Lopaczynsky W, Sporny S. Effects of the pineal gland on the growth processes of Guerin epithelioma in male Wistar rats. *Cytobios* 1993;73:89-94.
80. Lacassagne A, Chamorro A, Hurst L, Da Guiao B. Effet de l'épiphyssectomie sur l'hépatocarcinogenese chez le rat. *CR Acad Sci* 1969;269:1043-1046.
81. Buswell RS. The pineal gland and neoplasia. *Lancet* 1975;i:34-35.
82. Karmali RA, Horrobin DF, Ghayur T. Role of pineal gland in aetiology and treatment of breast cancer. *Lancet* 1978;ii:1002.
83. Blask DE, Hill SM, Orstead KM, Massa JS. Inhibitory effects of the pineal hormone melatonin and underfeeding during the promotional phase of 7,12-dimethylbenzanthracene (DMBA)-induced mammary tumorigenesis. *J Neural Transm* 1986;67:125-138.
84. Narita T, Kudo H. Effect of melatonin on B16 melanoma growth in athymic mice. *Cancer Res* 1985;45:4175-4177.
85. Leaden CA, Burns DM. Pineal-induced inhibition of prolactinoma growth in F344 rats: Effects of blinding and melatonin treatment (abstract 344). *Endocrine Society, 69th Annual Meeting*, 1986.
86. Philo R, Berkowitz AS. Inhibition of Dunning tumor growth by melatonin. *J Urol* 1988;139:1099-1104
87. Blask DE, Pelletier DB, Hill SM, Lemus-Wilson A, Grosso DS, Wilson ST, Wise ME. Pineal melatonin inhibition of tumor promotion in the N-nitroso-N-methylurea model of mammary carcinogenesis: Potential involvement of antiestrogenic mechanisms in vivo. *J Cancer Res Clin Oncol* 1991;117:526-532
88. Karasek M, Liberski P, Kunner-Radek J, Bartkowiak J. Influence of melatonin on the proliferation of hepatoma cells in the syrian hamster: In vivo and in vitro study. *J Pineal Res* 1992;13:107-110
89. Wrba H, Halberg F, Dutter A. Melatonin circadian-stage-dependently delays breast tumor development in mice injected daily for several months. *Chronobiology* 1986;13:123-129
90. Sabramanian A, Kothari L. Melatonin a suppressor of spontaneous murine mammary tumors. *J Pineal Res* 1991;10:136-140
91. Bostelmann W, Göcke H, Ernst B, Tesmann D. Der einfluss einer melatonin behandlung auf des wachstum des walker carcinosarcoma der ratte. *Z Aug Pathol* 1971;114:289-307
92. Lapin V, Ebels I. Effect of some low molecular weight sheep pineal fractions and melatonin on different tumors in rats mice. *Oncology* 1976;33:110-113
93. Bartsch H, Bartsch C. Effects of melatonin on experimental tumors under different photoperiods and times of administration. *J Neural Transm* 1981;52:269-279
94. Walker MJ, Chanduri PK, Beathe CW, Tito WA, Das Gupta TK. Neuroendocrine and endocrine correlates to hamster melanoma growth in vitro. *Surg Forum* 1978;29:151-152
95. Blask DE, Hill SM. Effect of melatonin on cancer: Studies on MCF-7 human breast cancer cells in culture. *J Neural Transm* 1986; suppl 21:433-449
96. Karasek M, Kunert-Radek J, Stepien H, Pawlikowski M. Melatonin inhibits the proliferation of estrogen-induced pituitary tumor cell in vitro. *Neuroendocrinol Lett* 1988;10:135-140
97. Leone AM, Silman RE, Hill BT, Whelon RDH, Shellard SA. Growth inhibitory effects of melatonin and its metabolites against ovarian tumor cell lines in vitro. In Gupta D, Attanasio A, Reiter RJ (eds): *The pineal gland and cancer*. Brain Res Promotion, London, 1988:273-281.
98. Persengiev SP, Kyurkchiev S. Selective effect of melatonin on the proliferation of lymphoid cells. *Int J Biochem* 1993;25:441-444.
99. Chen LD, Leal BZ, Reiter RJ, Abe M, Sewerynek E, Melchiori D, Meltz MJ, Poeggeler B. Melatonin's inhibitory effect on growth of ME-180 human cervical cancer cells is not related to intracellular glutathione concentration. *Cancer Lett* 1995;91:153-159.
100. Sze SF, Ng TB, Liu WK. Antiproliferative effect of pineal indoles on cultured tumor cell lines. *J Pineal Res* 1993;14:27-33.
101. Bartsch H, Bartsch C, Simon WE, Flehmig B, Ebels I, Lippert TH. Antitumor activity of the pineal gland: Effect of unidentified substances versus the effect of melatonin. *Oncology* 1992;49:27-30.
102. Zisapel N, Bubis M. Inhibition by melatonin of protein synthesis and growth of melanoma cells in culture. *Adv Pineal Res* 1994;7:259-267.
103. Panzer A, Viljoen M. The validity of melatonin as an oncostatic agent. *J Pineal Res* 1997;22:184-202.