ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Tıp.Derg.
2017; 31 (3): 131 - 135
http://www.fusabil.org

İnsan Over ve Prostat Kanseri Hücre Canlılığı Üzerine Etkili Yeni Bir İlaç: Agomelatin

Suat TEKİN

İnönü Üniversitesi,
Tıp Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı,
Malatya, TÜRKİYE

Amaç: Agomelatin yakın zamanda ülkemizde de tedavi amaçlı kullanılmaya başlanmış bir anti-depressan ilaçtır. Agomelatin, özellikle sirkadiyen ritimin düzenlenmesinde önemli fizyolojik rolleri olan melatonin hormonunun reseptör agonisti olarak tanımlanmaktadır. Bu çalışma melatonin ve agomelatinin insan prostat (PC-3) ve over kanseri hücre (A2780) canlılığı üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla yapıldı.

Gereç ve Yöntem: Araştırmada A2780 ve PC-3 hücre hatları kullanıldı. Tüm hücre hatlarına melatonin ve agomelatinin 0.1 mM, 1 mM, 5 mM ve 10 mM'lik konsantrasyonları 24 saat süreyle uygulandı. Hücre canlılığında meydana gelen değişimler 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromid (MTT) yöntemiyle belirlendi. MTT deney sonuçlarına göre inhibe edici logaritmik konsantrasyon 50 ($LogIC_{50}$) değeri hesaplandı.

Bulgular: İnsan kanser hücreleri' ne (A2780 ve PC-3) 24 saat süre için uygulanan melatonin ve agomelatinin tüm konsantrasyonlarının (0.1 mM, 1 mM, 5 mM ve 10 mM) % hücre canlılığını azalttığı belirlendi ($P<0.05$).

Sonuç: Bu çalışmanın sonuçları, agomelatinin ve melatoninin insan prostat ve over kanseri hücre hatlarına karşı güçlü sitotoksik ve antitümör özelliklerinin olduğunu ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Kanser, agomelatin, melatonin, PC-3, A2780*

A New Drug Effective on Human Ovarian and Prostate Cancer Cell Viability: Agomelatine

Objective: Agomelatine is an antidepressant drug which recently started to be used in our country. Agomelatine is described as a potent agonist of melatonin receptor, which has an important physiological role especially in the regulation of human circadian rhythms. This study was conducted to investigate the effects of melatonin and agomelatine on human ovarian (A2780) and prostate (PC-3) cancer cell viability.

Materials and Methods: A2780 and PC-3 cell lines were used in the study. The 0.1 mM, 1 mM, 5 mM ve 10 mM concentrations of melatonin and agomelatine were administered to all cell lines for 24 h. Changes in cell viability were determined by the MTT (3-(4, 5-dimethylthiazolyl-2)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide) assay. The 50% inhibitory concentration ($LogIC_{50}$) was calculated according to MTT assay results.

Results: It was determined that all concentrations (0.1 mM, 1 mM, 5 mM ve 10 mM) of melatonin and agomelatine administered to human cancer cells (A2780 and PC-3) for 24 h reduced % cell viability ($P<0.05$).

Conclusion: The results of this study demonstrate that melatonin and agomelatine have strong cytotoxic and antitumor effects against human prostate and ovarian cancer cell lines.

Key Words*: Cancer, agomelatine, melatonin, PC-3, A2780*

Geliş Tarihi : 14.12.2017
Kabul Tarihi : 17.01.2018

Yazışma Adresi
Correspondence

Suat TEKİN
İnönü Üniversitesi,
Tıp Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı,
Malatya - TÜRKİYE

suat.tekin@inonu.edu.tr

Giriş

Melatonin beyindeki pineal bezde sentezlenip ve salgılanan bir hormon olup organizmada sirkadiyen ritimin düzenlenmesini sağlar (1). Melatonin, merkezi sinir sitemindeki etkilerini, G proteinlerine bağlı melatonin için spesifik membran reseptörleri olan MT1 ve MT2 reseptörleri üzerinden oluşturur (2). Melatonin üretim ve salgı ritmi, birçok psikiyatrik hastalıkta değişmekte ve melatonin salgısındaki bu değişiklik sirkadiyen ritimin bozulması ile sonuçlanmaktadır (1, 3). Sirkadiyen ritimde meydana gelen bozulma kalitesiz uyku, yorgunluk hissi, dikkati toplayamama gibi hayat kalitesinde azalmalara neden olmakta, ayrıca yaşam kalitesindeki bu azalma depresyonun klinik belirtisi olarak karşımıza çıkmaktadır (4). Bu nedenle beyin melatonin sistemi depresyon için önemli bir hedef halini almıştır. *In vivo* çalışmalarla (5) sentetik melatonin alımının antidepresan etkilerinin olduğu, klinik çalışmalarda (3, 6) ise depresyon hastalarında melatonin sadece uyku-uyanıklık düzenini kurmada etkili olabileceği rapor edilmiştir. Bu nedenle melatonin benzeri antidepresan ilaçların keşfine ihtiyaç duyulmuş ve çalışmalar bu yönde ağırlık kazanmıştır. Sirkadin, ramelton, tasimelteon ve agomelatin gibi birçok yeni melatonin analoğu geliştirilmiştir (3, 7).

Agomelatin melatoninerjik reseptör (MT1 ve MT2) agonisti ve 5HT2C reseptör antagonisti olarak yakın zamanda geliştirilmiş bir antidepresan ilaçtır (8). Yapılan araştırmalar ile agomelatinin majör depresif hastaların tedavisinde etkinliği yaygın olarak gösterilmiştir (9). Mevcut veriler sınırlı olmasına rağmen çeşitli anksiyete bozukluklarının tedavisinde agomelatinin yararlı olabileceği rapor edilmiştir (10). İçme sularına kortikositeron konarak stres modeli oluşturulan sıçanlarda, agomelatin uygulamasının strese bağlı olarak ortaya çıkan davranışsal etkileri düzelttiği ve hipokampusta yeni nöron gelişimini arttırdığı gösterilmiştir (11). Bir araştırmada (12) da agomelatinin yapısal nöroplastisite üzerine hücresel düzeyde olumlu etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Agomelatinin nöroplastisite üzerindeki olumlu etkileri MT1/MT2 reseptörleri uyarıcı ve serotonerjik 5-HT_{2C} reseptörleri bloke edici etkilerinin eş zamanlı ve birlikte işlev görmesiyle ilişkili olduğu rapor edilmiştir (12, 13).

Hem melatonin hem de reseptör agonisti olan agomelatinin antidepresan etkileri dışında etkilerinin araştırıldığı çalışmalar günümüzde giderek artmaktadır. Melatonin ile yapılan çalışmalar melatononin yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğunu, kanser hücre canlılığını azalttığını ve tümör gelişimini gerilettiğini özetlemektedir (14-16). Agomelotonin ile yapılan araştırmalarda ise agomelatinin antioksidan özelliklerinin olduğu (17) ve meme kanseri hastada meydana gelen depresyonun agomelatin ile tedavi edildiği ortaya konmuştur (18). Kanser vaka sayısı ülkemizde ve dünyada her geçen gün giderek artmaktadır. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu tarafından yayınlanan rapora göre, ülkemizde prostat kanseri, erkek kanserleri arasında ikinci sırada (19), over kanseri ise kadın kanserleri arasında altıncı sırada ve kadınlarda ölümlerin başlıca nedenlerinden biri olarak tanımlanmaktadır (20). Tıptaki ilerlemelere, geliştirilen cerrahi teknikler ve modern sitostatik ilaçlara rağmen, kanser vakalarındaki tedavi sonuçları zayıf kalmaya devam etmektedir. MT1 veya MT2 melatonin reseptörlerini hedefleyen agomelotinin kanser tedavisinde etkili olabileceği düşünülmektedir (21).

Bu çalışma melatonin ve agomelatinin (melatonin agonisti) insan over (A2780) ve prostat kanseri (PC-3) hücre canlılığı üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Hücre Kültürleri: Melatonin ve agomelatinin kanser hücre canlılığı üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada A2780 ve PC-3 hücre hatları kullanıldı. Hücreler ATTC'den satın alındı. Tüm hücrelerin 25 ve 75 cm^2'lik flasklarda, RPMI-1640 medyum (Sigma-Aldrich, ABD; içerisine %10 FBS, 100 U/mL penisilin ve 0.1 mg/mL streptomisin ilave edilerek hazırlanan) ile iki gün arayla beslenmeleri sağlandı. Karbondioksitli (%5 CO_2) inkübatörde (Panasonic, Japonya), 37 °C'de ve nemli ortamda tutulan hücreler konfluent olduğunda, tripsin-EDTA (Sigma-Aldrich, ABD) solüsyonu kullanılarak flasklardan ayrıldı. Hücrelerin canlılık oranı %0.4 tripan mavisi kullanılarak belirlendi ve canlılık oranının %90'ın üstünde olduğu durumlarda deneylere başlandı.

Melatonin ve Agomelatinin Hazırlanışı ve Kültür Ortamına Eklenmesi: Melatonin (Sigma-Aldrich, ABD) ve agomelatinin (Sigma-Aldrich, ABD) etil alkol (ETOH; Merck, Almanya) içerisinde çözüldü ve ETOH buharlaştırılarak melatonin ve agomelatinin 0.1, 1, 5 ve 10 mM'lık konsantrasyonları RPMI-1640 medyum içerisinde hazırlandı.

MTT Deneyi: Sitotoksik etkileri belirlemek amacıyla flasklardan tripsin-EDTA solüsyonu kullanılarak sökülen hücreler hemositometre yardımı ile sayıldı. Her kuyucuğa $1.5x10^4$ hücre gelecek şekilde 200 µL RPMI-1640 medyum içerisinde 96 kuyucuklu plaklara ekildi. Hücreler 96 kuyucuklu plak tabanına tutunması için 24 saat süreyle CO_2'li inkübatörde 37 °C'lik ısıda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sona erdiğinde melatonin ve agomelatinin 0.1, 1, 5 ve 10 mM'lık konsantrasyonları hücrelerin içinde bulunduğu kuyucuklara ilave edildi. 24 saat süreyle melatonin ve agomelatinin konsantrasyonlarının hücre canlılığında meydana getirecekleri etkileri belirlemek amacıyla CO_2'li inkübatörde 37 °C'de 24 saat süreyle kanser hücreleri ile inkübasyon sağlandı. İnkübasyon sona erdiğinde steril PBS içerisinde 0.5 mg/mL MTT solüsyonu hazırlandı ve 96 kuyucuklu plaklara ilave edildi. MTT eklendikten sonra plaklar yeniden 3 saat inkübatörde bekletildi. Bu süre sonrasında kuyucuklara dimetilsülfioksit (DMSO) eklenerek inkübasyon durduruldu ve plakalardaki hücrelerin optik dansiteleri spektofotometre cihazında (Synergy HTX, ABD) 550 nm dalga boyunda okutuldu (22).

Kontrol kuyucukları okutularak, elde edilen absorbans değerlerinin ortalaması alınarak bu değer %100 canlı hücre olarak kabul edildi. Melatonin ve agomelatinin uygulanan kuyucuklardan elde edilen absorbans değerleri, kontrol grubu absorbans değerine oranlanarak yüzde canlılık değerleri belirlendi. MTT denemeleri farklı günlerde üçlü tekrar olarak 10 defa yapıldı ve uygulanan bileşiklerin inhibe edici logaritmik 50 ($LogIC_{50}$) değerleri elde edilen MTT sonuçlarına göre bilgisayar ortamında Graphpad prism 6 programı kullanılarak hesaplandı.

İstatistiksel Analiz: Analizlerde IBM SPSS Statistics 24.0 (Windows) paket programı kullanıldı. Shapiro Wilk testi ile normal dağılıma uygunluk değerlendirildi. Nicel değişkenlerin gruplar arası karşılaştırılmaları, Kruskal Wallis H testi ile ölçüldü. Gruplar arasında önemli istatistiksel farklılık belirlendiğinde gruplar arası çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile yapıldı. $P<0.05$ değeri istatistiksel olarak önemli kabul edildi. Melatonin ve agomelatinin $LogIC_{50}$ değerleri, denemeler sonucunda elde edilen MTT sonuçlarına göre, bilgisayar ortamında Graphpad prism 6 programı kullanılarak hesaplandı.

Bulgular

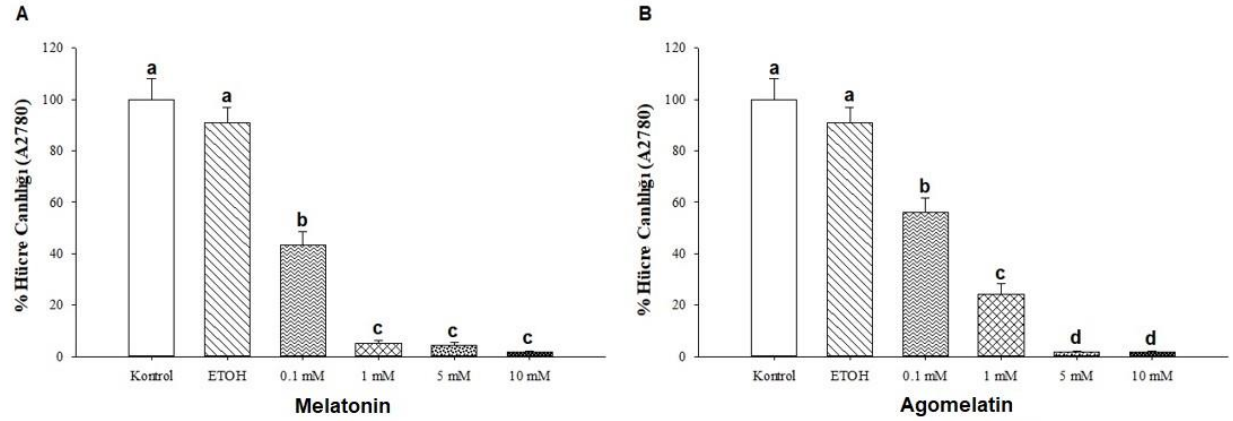
A2780 hücreleri 24 saat süreyle melatonin ve agomelatinin 0.1, 1, 5 ve 10 mM'lik konsantrasyonları ile inkübe edildikten sonra hücre canlılık oranlarında meydana gelen % değişimler sırasıyla Şekil 1A ve Şekil 1B'de gösterilmiştir. A2780 hücrelerine uygulanan melatoninin tüm konsantrasyonlarının hücre canlılığını istatistiksel olarak önemli düzeyde azalttığı tespit edildi ($P<0.05$) Agomelatinin ile yapılan denemelerde 0.1, 1, 5 ve 10 mM'lik agomelatinin uygulamasının insan over kanseri hücre canlılığını önemli düzeyde azalttığı belirlendi ($P<0.05$).

Melatonin ve agomelatinin PC-3 hücrelerine 24 saat süreyle uygulanmasından sonra hücre canlılığı üzerinde meydana getirdikleri % canlılık oranındaki etkileri Şekil 2A ve 2B'de sunulmuştur. Hem melatonin hem de agomelatinin tüm konsantrasyonlarının (0.1, 1, 5 ve 10 mM) PC-3 hücre canlılığını azalttığı ($P<0.05$) ve bu azalmanın doz bağımlı (10 mM'lik agomelatinin hariç) olarak ortaya çıktığı görüldü.

Melatonin ve agomelatinin 24 saat süre ile uygulanmasına bağlı olarak elde edilen MTT deneylerinin sonuçlarına göre A2780 ve PC-3 hücreleri için hesaplanan $LogIC_{50}$ değerleri Tablo 1'de sunulmuştur. Hesaplanan $LogIC_{50}$ değerleri dikkate alındığında melatonin en düşük konsantrasyonda PC-3 hücrelerinde, agomelatinin ise en düşük konsantrasyonda A2780 hücrelerinde daha etkili olduğu görüldü.

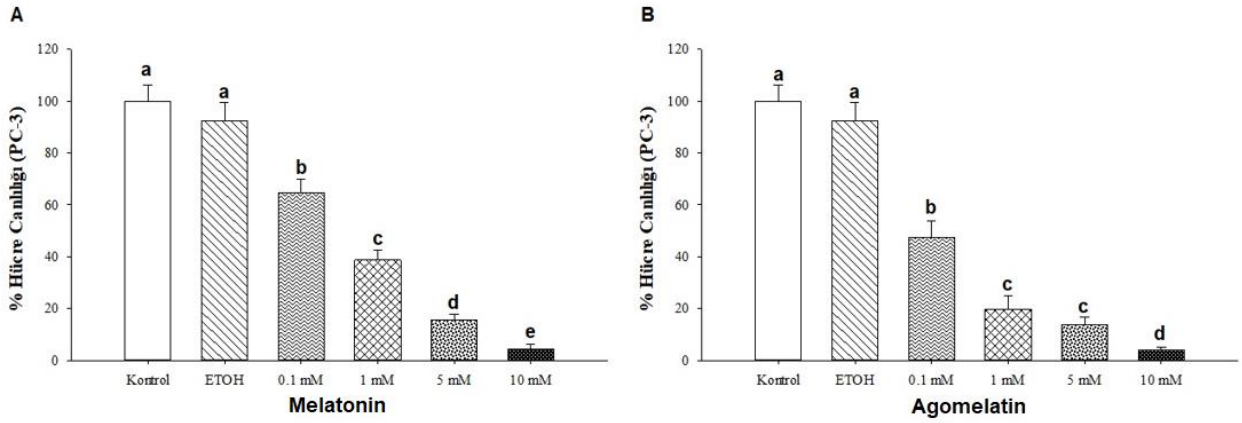
Tablo 1. Melatonin ve agomelatinin GraphPad Prizm 6 programında PC-3 ve A2780 hücreleri için hesaplanan $LogIC_{50}$ (mM) konsantrasyonları

	Melatonin	**Agomelatin**
Hücre Tipi	$LogIC_{50}$ (mM)	$LogIC_{50}$ (mM)
A2780	-1.12	-0.80
PC-3	-0.38	-0.96



Şekil 1. Hücre hattına 24 süreyle uygulanan melatonin (A) ve agomelatinin (B) A2780 hücrelerinin canlılık oranlarında meydana getirdiği % değişiklikler

(Farklı harfler iki grup arasındaki farklılığı göstermektedir; ^{a,b,c,d} $P<0.05$)



Şekil 2. Hücre hattına 24 süreyle uygulanan melatonin (A) ve agomelatinin (B) PC-3 hücrelerinin canlılık oranlarında meydana getirdiği % değişiklikler

(Farklı harfler iki grup arasındaki farklılığı göstermektedir; ^{a,b,c,d,e} $P<0.05$)

Tartışma

Melatoninin farklı kanser hücre hatlarında antitümör aktivitesinin araştırıldığı çok sayıda çalışma vardır. *In vitro* olarak melatonin'in (23-25) ve ilaçlarla birlikte uygulanan melatoninin (26, 27), fizyolojik ve farmakolojik doz aralığında (28) değerlendirildiği çalışmalarda melatoninin antitümör etkisinin yalnızca kullanılan konsantrasyona bağlı olarak değil aynı zamanda hücre tipine ve kültür koşullarına da bağlı olarak değişebileceğini göstermektedir (29, 30). Yapılan bir çalışma (31) ile insan meme kanseri hücre hattına (MCF-7) uygulanan melatoninin, hücre büyümesini engellediği ve hücrelerin metastatik potansiyellerini azalttığı gösterilmiştir. Bir başka çalışmada da melatoninin düşük konsantrasyonlarda, DNA sentezinde önemli azalmaya neden olmadığı ve hücre büyümesini etkilemediği ortaya konmuş ve sadece yüksek milimolar konsantrasyonlarda anti-kanserojenik aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir (16, 32). Leon-Blanco ve ark. (16)'nın yapmış olduğu çalışmada MCF-7 implante edilen farelerde melatoninin tümör kütlesinde belirgin bir azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. Sainz ve ark. (33)'nın yaptığı çalışmada da melatonine bağlı olarak MT1 reseptörlerinin aktivasyonunda meydana gelen artışın göğüs ve prostat kanseri hücrelerinin büyümesini azalttığı rapor edilmiştir. Yapılan çalışmalarda melatoninin PC-3 hücre büyümesini azalttığı (33, 34) ve A2780 hücreleri üzerine antikanserojenik etki gösterdiği bildirilmektedir (35). Melatoninin antikanser aktivitesine yönelik literatürde çok sayıda yer alan çalışmaya rağmen agonisti olarak bilinen agomelatin ile bu yönde yapılmış çalışmalar yok denecek kadar azdır. Bu çalışmada A2780 ve PC-3 hücrelerine uygulanan melatonin tüm konsantrasyonların kanser hücre hatlarında azalmaya neden olduğu görüldü. Melatonin'in A2780 hücre canlılığında meydana getirdiği bu azalmanın 0.1 ve 1 mM'lik konsantrasyonlarda doz bağımlı, 5 ve 10 mM'lik konsantrasyonlarda 1 mM'lik konsantrasyondaki etki ile benzer olduğu öte yandan PC-3 hücre canlılığını ise doz bağımlı olarak azalttığı belirlendi. Melatonin agonisti olan agomelatin ile yapılan denemelerde de melatoninin etkilerine benzer tarzda A2780 ve PC-3 hücre canlılığının önemli düzeyde azaldığı görüldü. Agomelatinin uygulamasına bağlı olarak hücre canlılığında meydana gelen % azalmanın hem A2780 hücrelerinde hem de PC-3 hücrelerinde (5 mM'lik konsantrasyon hariç) doz bağımlı olduğu görüldü. Her iki hücre hattı için yapılan Log_{IC50} konsantrasyon hesaplamalarına göre agomelatinin de kanser hücreleri üzerinde melatonin kadar güçlü sitotosik aktiviteye sahip olduğu belirlendi.

Melatonin anti kanser aktivitesi üzerine yapılan çalışmaların sonuçları ve bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, melatoninin özellikle PC-3 ve A2780 hücre canlılığını azalttığı yönündedir. Yapılan bu araştırma ile bir melatonin reseptör agonisti olan agomelatinin de A2780 ve PC-3 hücreleri üzerinde güçlü sitotoksik aktiviteye sahip olduğu ve bu aktivitenin melatonin ile benzer düzeyde olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar insan over ve prostat kanseri tedavisinde agomelatin de önemli etkilere sahip olabileceğini işaret etmektedir.

Kaynaklar

1. Lopez-Munoz F, Molina JD, Rubio G, Alamo C. An historical view of the pineal gland and mental disorders. J Clin Neurosci 2011; 18: 1028-1037.
2. Maldonado MD, Reiter RJ, Perez-San-Gregorio MA. Melatonin as a potential therapeutic agent in psychiatric illness. Hum Psychopharmacol 2009; 24: 391-400.
3. Hickie IB, Rogers NL. Novel melatonin-based therapies: Potential advances in the treatment of major depression. Lancet 2011; 378: 621-631.
4. Germain A, Kupfer DJ. Circadian rhythm disturbances in depression. Hum Psychopharmacol 2008; 23: 571-585.
5. Raghavendra V, Kaur G, Kulkarni SK. Anti-depressant action of melatonin in chronic forced swimming-induced behavioral despair in mice, role of peripheral benzodiazepine receptor modulation. Eur Neuropsychopharmacol 2000; 10: 473-481.
6. Dalton EJ, Rotondi D, Levitan RD, Kennedy SH, Brown GM. Use of slow-release melatonin in treatment-resistant depression. J Psychiatry Neurosci 2000; 25: 48-52.
7. Ettaoussi M, Sabaouni A, Rami M, et al. Design, synthesis and pharmacological evaluation of new series of naphthalenic analogues as melatoninergic (MT1/MT2) and serotoninergic 5-HT2C dual ligands (I). Eur J Med Chem 2012; 49: 310-23.
8. Srinivasan V, De Berardis D, Shillcutt SD, Brzezinski A. Role of melatonin in mood disorders and the antidepressant effects of agomelatine. Expert Opin Investig Drugs 2012; 21: 1503-1522.
9. De Berardis D, Marini S, Fornaro M, et al. The melatonergic system in mood and anxiety disorders and the role of agomelatine: Implications for clinical practice. Int J Mol Sci 2013; 14: 12458-12483.
10. De Berardis D, Conti CM, Marini S, et al. Is there a role for agomelatine in the treatment of anxiety disorders?A review of published data. Int J Immunopathol Pharmacol 2013; 26: 299-304.
11. Rainer Q, Xia L, Guilloux JP, et al. Beneficial behavioural and neurogenic effects of agomelatine in a model of depression/anxiety. Int J Neuropsychopharmacol 2012; 15: 321-335.
12. Ladurelle N, Gabriel C, Viggiano A, et al. Agomelatine (S20098) modulates the expression of cytoskeletal microtubular proteins, synaptic markers and BDNF in the rat hippocampus, amygdala and PFC. Psychopharmacology (Berl) 2012; 221: 493-509.
13. Racagni G, Riva MA, Molteni R, et al. Mode of action of agomelatine: synergy between melatonergic and 5-HT2C receptors. World J Biol Psychiatry 2011; 12: 574-587.
14. Akbarzadeh M, Movassaghpour AA, Ghanbari H, et al. The potential therapeutic effect of melatonin on human ovarian cancer by inhibition of invasion and migration of cancer stem cells. Sci Rep 2017; 7: 17062.

15. Shiu SY. Towards rational and evidence-based use of melatonin in prostate cancer prevention and treatment. J Pineal Res 2007; 43: 1-9.

16. Leon-Blanco MM, Guerrero JM, Reiter RJ, Calvo JR, Pozo D. Melatonin inhibits telomerase activity in the MCF-7 tumor cell line both in vivo and in vitro. J Pineal Res 2003; 35: 204-211.

17. Akaras N, Bal T, Atilay H, Selli J, Halici MB. Protective effects of agomelatine on testicular damage caused by bortezomib. Biotech Histochem 2017: 1-8.

18. De Berardis D, Brucchi M, Serroni N, et al. Successful use of agomelatine in the treatment of major depression in a woman taking tamoxifen: A case report. Clin Neuropharmacol 2014; 37: 31-33.

19. T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. "Türkiye Kanser İstatistikleri Rapor". http://kanser.gov.tr/Dosya/ca_istatistik/Turkiye_Kanser_istatistikleri.pdf/ 14.12.2017.

20. Hennessy BT, Coleman RL, Markman M. Ovarian cancer. Lancet 2009; 374: 1371-1382.

21. Liu J, Clough SJ, Hutchinson AJ, et al. MT1 and MT2 melatonin receptors: A therapeutic perspective. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2016; 56: 361-383.

22. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods 1983; 65: 55-63.

23. Mediavilla MD, Sanchez-Barcelo EJ, Tan DX, Manchester L, Reiter RJ. Basic mechanisms involved in the anti-cancer effects of melatonin. Curr Med Chem 2010; 17: 4462-4481.

24. Sanchez-Hidalgo M, Guerrero JM, Villegas I, Packham G, de la Lastra CA. Melatonin, a natural programmed cell death inducer in cancer. Curr Med Chem 2012; 19: 3805-3821.

25. Zhang S, Qi Y, Zhang H, et al. Melatonin inhibits cell growth and migration, but promotes apoptosis in gastric cancer cell line, SGC7901. Biotech Histochem 2013; 88: 281-289.

26. Hermann R, Podhajsky S, Jungnickel S, Lerchl A. Potentiation of antiproliferative effects of tamoxifen and ethanol on mouse hepatoma cells by melatonin: Possible involvement of mitogen-activated protein kinase and induction of apoptosis. J Pineal Res 2002; 33: 8-13.

27. Martin V, Garcia-Santos G, Rodriguez-Blanco J, et al. Melatonin sensitizes human malignant glioma cells against TRAIL-induced cell death. Cancer Lett 2010; 287: 216-223.

28. Jung B, Ahmad N. Melatonin in cancer management: progress and promise. Cancer Res 2006; 66: 9789-9793.

29. Rodriguez C, Martin V, Herrera F, et al. Mechanisms involved in the pro-apoptotic effect of melatonin in cancer cells. Int J Mol Sci 2013; 14: 6597-6613.

30. Di Bella G, Mascia F, Gualano L, Di Bella L. Melatonin anticancer effects: review. Int J Mol Sci 2013; 14: 2410-2430.

31. Carpentieri A, Diaz de Barboza G, Areco V, Peralta Lopez M, Tolosa de Talamoni N. New perspectives in melatonin uses. Pharmacol Res 2012; 65: 437-444.

32. Farriol M, Venereo Y, Orta X, Castellanos JM, Segovia-Silvestre T. In vitro effects of melatonin on cell proliferation in a colon adenocarcinoma line. J Appl Toxicol 2000; 20: 21-24.

33. Sainz RM, Mayo JC, Tan DX, et al. Melatonin reduces prostate cancer cell growth leading to neuroendocrine differentiation via a receptor and PKA independent mechanism. Prostate 2005; 63: 29-43.

34. Rimler A, Lupowitz Z, Zisapel N. Differential regulation by melatonin of cell growth and androgen receptor binding to the androgen response element in prostate cancer cells. Neuro Endocrinol Lett 2002; 23 Suppl 1: 45-49.

35. Galley HF, McCormick B, Wilson KL, et al. Melatonin limits paclitaxel-induced mitochondrial dysfunction in vitro and protects against paclitaxel-induced neuropathic pain in the rat. J Pineal Res 2017; 63: