



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Grado

El papel de la melatonina en el carcinoma colorrectal **The role of melatonin in colorectal cancer**

Autor:

Manuela Plumed Velilla

Director:

José Joaquín García García

Departamento de Farmacología, Fisiología y Medicina Legal y Forense

Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza

Curso académico 2021-2022

ABREVIATURAS

CaM	Calmodulina
CAMKIIa	Proteína cinasa II dependiente de Ca^{2+} /calmodulina
CCR	Carcinoma colorrectal
COX-2	Ciclooxigenasa 2
EGF	Factor de crecimiento epidérmico
EGFR	Receptor del factor de crecimiento epidérmico
ET-1	Endotelina-1
GI	Gastrointestinal
HIF-1α	Factor 1 α inducido por hipoxia
IFN-γ	Interferón gamma
iNOS	Óxido nítrico sintasa inducible
LB	Linfocitos B
LT	Linfocitos T
MMP9	Metalopeptidasa de matriz 9
MLC	Cadenas ligeras de miosina
MLCK	Quinasa de cadenas ligeras de miosina
NAT	N-acetiltransferasa
NK	Células Natural Killer
NO	Óxido nítrico
PINK-1	Quinasa 1 inducida por PTEN
PI3K/AKT	Vía de la fosfatidilinositol-3-kinasa
PrPc	Proteína priónica celular
QT	Quimioterapia
Redox	Metabolismo de reducción-oxidación
RI	Radiación ionizante
RL	Radicales libres
ROS	Especies reactivas de oxígeno
ROCK	Proteína quinasa asociada a Rho
RT	Radioterapia
SI	Sistema inmune
TGF-β	Factor de crecimiento transformante β
VEGF	Factor del crecimiento endotelial vascular
5-FU	5-fluorouracilo

ÍNDICE

1.	RESUMEN Y PALABRAS CLAVE	2
2.	INTRODUCCIÓN	4
2.1	FISIOLOGÍA DE LA MELATONINA.....	4
2.2	CÁNCER DE COLON: EPIDEMIOLOGÍA Y GENERALIDADES	6
2.3	JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	9
3.	MATERIAL Y MÉTODOS	10
3.1	Estrategia de búsqueda	10
3.2	Criterios de inclusión y exclusión	10
3.3	Tabla explicativa	11
4.	RESULTADOS	12
4.1	APOPTOSIS, AUTOFAGIA Y FRENO CELULAR	12
4.1.1	Apoptosis	12
4.1.2	Autofagia.....	13
4.1.3	Freno celular	14
4.2	ANGIOGÉNESIS, MIGRACIÓN CELULAR Y METÁSTASIS	16
4.3	EFFECTOS ANTIOXIDANTES	17
4.4	INMUNOMODULACIÓN	19
4.5	SINERGIA CON LAS TERAPIAS ACTUALES EN EL CCR: QUIMIO Y RADIOTERAPIA	20
4.6	SUEÑO	23
4.7	MICROBIOTA Y METABOLISMO LIPÍDICO INTESTINALES	24
4.8	ESTUDIOS CLÍNICOS	26
5.	CONCLUSIONES.....	28
6.	BIBLIOGRAFÍA	30

1. RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

Resumen

El cáncer colorrectal es una de las neoplasias más prevalentes a nivel mundial, ocupando en orden de frecuencia el segundo lugar en mujeres, tras el cáncer de mama, y el tercero en hombres, tras el de pulmón y de próstata. En su fisiopatología intervienen distintas vías de señalización celular disfuncionales, sobre las que puede actuar la melatonina para detener su progresión. La melatonina es una molécula que, presente en todos los seres vivos y producida tanto en la glándula pineal como en diversos tejidos periféricos, maneja múltiples funciones fisiológicas en el organismo, entre las que destacan su potente capacidad antioxidante y la regulación del ciclo circadiano sueño-vigilia. Además, interviene en el control fisiológico del tracto gastrointestinal y está siendo considerada como un nuevo agente en el tratamiento del cáncer colorrectal, pues puede frenar la proliferación y migración celulares, la angiogénesis y la progresión de las metástasis, y es capaz de inducir la apoptosis y autofagia de células tumorales. Además, modula su capacidad antioxidante y prooxidante condicional para prevenir su progresión e interviene en la regulación del sistema inmune disminuyendo la inflamación y aumentando la respuesta antitumoral. A su vez, la asociación del cáncer colorrectal con los trastornos del sueño y las alteraciones en la microbiota y metabolismo lipídico intestinales son evaluadas para su posible tratamiento con esta indolamina. Por último, la combinación de melatonina con la quimioterapia y radioterapia aumentan la sensibilidad a estos tratamientos y reducen sus efectos tóxicos derivados, lo que sugiere que la melatonina pueda ser considerada como un agente complementario en el manejo de esta enfermedad. Actualmente, los ensayos clínicos que analizan su papel en el tratamiento del carcinoma colorrectal son pocos, de manera que se requieren más investigaciones de este tipo para determinar hasta qué punto la melatonina debe ser incluida como terapia estándar en el cáncer colorrectal.

Palabras clave: carcinoma colorrectal, melatonina, apoptosis, proliferación celular, metástasis, 5-fluorouracilo.

Abstract

Colorectal cancer is one of the most prevalent neoplasms worldwide, taking up second place in order of frequency in women, behind breast cancer, and the third place in men, behind lung and prostate cancer. Several dysfunctional cellular signalling are involved in its pathophysiology, over which melatonin can stop their spread. Melatonin is a molecule that, present in every living being and produced in the pineal gland as well as in several peripheric tissues, controls multiple physiological functions in the organism, such as its potent antioxidant capability and the regulation of dream-wakefulness circadian rhythm. Furthermore, melatonin handles the physiological control of the gastrointestinal tract, and it is now being considered as a new therapeutic agent in colorectal cancer, as it can inhibit cellular proliferation and migration, angiogenesis, and metastasis spreading, and it's capable of inducing apoptosis and autophagy in tumoral cells. Moreover, melatonin is able to modulate its antioxidant and its conditional prooxidant capacity in order to prevent its progression and plays a part in the regulation of the immune system by decreasing inflammation and improving the antitumoral response. In addition, the association between colorectal cancer and sleeping disorders and dysregulation of the intestinal microbiota and intestinal lipidic metabolism are evaluated to their possible treatment with this indolamine. Finally, the combination of melatonin with chemotherapy and radiotherapy increases the sensitivity to these treatments and reduces their underlying toxic effects, which suggests that melatonin can be considered as a supportive agent in the management of this illness. Nowadays, there are only a few clinical trials that study its role in the treatment of colorectal cancer, so that new investigations of this kind are required to determine the extent to which melatonin should be included as a standard therapy in colorectal cancer.

Keywords: colorectal cancer, melatonin, apoptosis, cellular proliferation, metastasis, 5-fluorouracil.

2. INTRODUCCIÓN

2.1 FISIOLÓGÍA DE LA MELATONINA

La melatonina o N-acetil-5-metoxitriptamina es una molécula implicada en múltiples funciones del organismo. Sobre todo, es conocida por su papel regulador del ciclo circadiano sueño-vigilia. Está presente en todos los seres vivos. En los mamíferos se produce en la glándula pineal y en tejidos periféricos, como en la médula ósea, la retina, la piel, el tracto gastrointestinal (GI), y las gónadas (Tordjman et al., 2017; Cipolla-Neto y Gaspar do Amaral, 2018 a).

La glándula pineal está localizada en el techo del tercer ventrículo. El núcleo hipotalámico supraquiasmático recibe información de la intensidad luminosa exterior procedente de la retina. Su respuesta es enviada a lo largo de una larga vía eferente que tras alcanzar la médula espinal y el ganglio cervical superior termina en los pinealocitos de la glándula pineal, a través de sinapsis noradrenérgicas, que inician una vía de segundos mensajeros para regular la síntesis de melatonina mediante la activación y aumento de expresión de la enzima N-acetil transferasa (NAT). Una vez la melatonina es producida, será liberada a la circulación sistémica y al líquido cefalorraquídeo por un proceso de difusión simple a través de la bicapa, llegando a todos los tejidos diana, tanto centrales como periféricos. Las mayores concentraciones plasmáticas de melatonina se alcanzan durante la fase de oscuridad, y caen drásticamente durante las horas de luz (Cipolla-Neto y Gaspar do Amaral, 2018 b).

En plasma la melatonina circula tanto libre como unida a la albúmina y, sufre metabolismo hepático mediado principalmente por la CYP1A2 para ser excretada por vía renal. La 6-sulfatoximelatonina es el metabolito resultante de su degradación, y puede ser medida en orina para evaluar la función de la glándula pineal (Tordjman et al., 2017; Cipolla-Neto y Gaspar do Amaral, 2018 a).

Las concentraciones plasmáticas nocturnas normales varían entre los 20 y 120 pg/mL, con un pico de secreción de melatonina entre las 2 y las 4 de la mañana, disminuyendo progresivamente hasta el despertar. Durante el día, las concentraciones séricas son mucho más bajas, de 5-20 pg/mL. Un rasgo relevante es que hay al menos 400 veces más melatonina en el tracto GI que en la glándula pineal (Tordjman et al., 2017).

Si se administra de manera exógena, la absorción de la melatonina es bastante rápida por cualquier vía: oral, intravenosa, nasal, parches o cremas para la piel. Se debe tener en cuenta que, por vía oral, la biodisponibilidad será algo más baja debido al fenómeno de primer paso hepático. En los tratamientos para regular los ritmos circadianos, la administración de

melatonina debe realizarse poco antes de acostarse, imitando su producción fisiológica. Generalmente, en una persona de mediana edad, el pico de concentración plasmática tras la administración oral de melatonina tiene lugar a los 45 minutos (Cipolla-Neto y Gaspar Do Amaral, 2018 a).

Dentro de los mecanismos de acción de la melatonina, pueden diferenciarse entre aquellos no mediados por receptores, y los resultantes de su unión específica a receptores. Entre los primeros destaca su acción antioxidante, pues neutraliza radicales libres (RL) de oxígeno y nitrógeno, tanto de forma directa como indirecta mediante la activación de los sistemas enzimáticos antioxidantes intracelulares: superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, glutatión reductasa, y catalasa (Cipolla-Neto y Gaspar Do Amaral, 2018 a). Entre los segundos, puede actuar a distintos niveles sobre la célula: a través de receptores de membrana, nucleares y a través de la interacción con proteínas citosólicas. Los receptores de membrana son el MT1 y el MT2. Están acoplados a proteínas G, que generalmente disminuyen el GMPc y el AMPc, y aumentan el diacilglicerol y el IP₃ (Cipolla-Neto y Gaspar Do Amaral, 2018 a). A nivel del sistema nervioso central, MT1 está presente en diversas regiones cerebrales, sobre todo en la *pars tuberalis* de la adenohipófisis y en el hipotálamo. Los MT2 se encuentran principalmente en la retina. Estos receptores también se distribuyen ampliamente en el corazón, arterias, glándulas suprarrenales, riñones, pulmones, hígado, vesícula biliar, intestino delgado, adipocitos, ovarios, útero, mamas, próstata y piel. Además, también se han encontrado en linfocitos T (LT) y B (LB) (Tordjman et al. 2017). Hay un tercer tipo de receptores de membrana, los Mel1C o MT3, que se han encontrado en el sistema nervioso de vertebrados no mamíferos. Finalmente, se han descrito receptores nucleares pertenecientes a la familia ROR/RZR, receptores huérfanos de retinoides/receptores de retinoides Z (Cipolla-Neto y Gaspar Do Amaral, 2018 a y b).

En cuanto a las funciones de la melatonina en el hombre, la indolamina controla tanto los ritmos circadianos como los estacionales y diversas funciones neuroendocrinas relacionadas con el metabolismo energético, la reproducción y el sistema inmune (SI). La melatonina favorece el sueño durante las horas de oscuridad, de manera que controla el ciclo sueño-vigilia. Esto lo puede hacer modificando la expresión de genes reloj responsables de la mayoría de las funciones celulares. Su finalidad es lograr la adaptación al entorno y a los cambios estacionales (Tordjman et al., 2017; Cipolla-Neto y Gaspar do Amaral, 2018 a). Con todo ello se puede afirmar que la melatonina es una poderosa molécula cronobiótica, necesaria para que la compleja

maquinaria de nuestro organismo funcione correctamente (Cipolla-Neto y Gaspar Do Amaral 2018 a). En la inmunidad, la indolamina estimula la producción de citocinas, entre ellas IL-2, IL-6, IL-12, e interviene en las respuestas inmunitarias mediadas por LT helper. También reduce la formación de óxido nítrico (NO) y así frena la respuesta inflamatoria (Tordjman et al. 2017). Sus acciones antioxidantes también podrían contribuir a su papel neuroinmunomodulador. La melatonina interviene en la función reproductiva y en la maduración sexual de los mamíferos, regulando la expresión de la hormona liberadora de gonadotropina. El patrón rítmico de liberación de melatonina influye en la secreción pulsátil de hormona luteinizante, mediando en las fluctuaciones estacionales de la reproducción observadas tanto en animales como en humanos (Tordjman et al. 2017). Además, influye en la implantación embrionaria, en el mantenimiento del embarazo, y tiene un potente efecto antiestrogénico (das Chagas et al. 2015).

2.2 CÁNCER DE COLON: EPIDEMIOLOGÍA Y GENERALIDADES

El cáncer colorrectal (CCR) es una de las neoplasias más prevalentes en el mundo. En 2020 fue el tercer cáncer más comúnmente diagnosticado con 1.931.590 nuevos casos y la segunda causa de muerte por cáncer con 935.173 muertes (Sung H et al., 2021). En orden de frecuencia, ocupa el segundo lugar en mujeres, tras el cáncer de mama, y el tercero en hombres, tras el de pulmón y de próstata. En las mujeres, la incidencia y la mortalidad son aproximadamente un 25% menores que en los hombres, dependiendo de la zona geográfica a la que pertenezcan, observándose tasas más altas en los países más desarrollados. Debido al aumento de nuevos casos en los países en vías de desarrollo, se prevé que la incidencia de cáncer colorrectal mundial aumente a 2,5 millones de nuevos casos en 2035 (Dekker et al. 2019). La estimación del número de nuevos casos de cáncer de colon y de recto en España para ambos sexos que realiza la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM) para el año 2022 es de 28.706 y 14.664 respectivamente (Sociedad Española de Oncología Médica, 2022).

Únicamente en países muy desarrollados se han observado tendencias a la estabilización y disminución en la incidencia de CCR. Esto se debe principalmente a los programas de cribado existentes a nivel nacional, al aumento de la aceptación de la colonoscopia como método diagnóstico y terapéutico y a los cambios en el estilo de vida y la dieta. Sin embargo, se ha observado un aumento en los pacientes menores de 50 años, especialmente en el cáncer rectal y en el de colon del lado izquierdo. Aunque los factores genéticos y ambientales como el estilo

de vida pueden tener alguna asociación, las razones exactas de este aumento no están claramente establecidas (Dekker et al. 2019).

Los numerosos factores de riesgo que intervienen en la aparición del cáncer pueden dividirse según su reversibilidad, en modificables y no modificables; y según su naturaleza, en hereditarios y ambientales. Entre los factores no modificables se encuentran el sexo masculino, el aumento de la edad, la presencia de antecedentes familiares de cáncer de colon, de síndromes de cáncer colorrectal hereditarios asociados o no a poliposis, de enfermedad inflamatoria intestinal, etc. Entre los factores modificables, se incluyen el espectro del síndrome metabólico (diabetes mellitus, obesidad, hipertensión arterial), la hipercolesterolemia, la inactividad física, el tabaquismo, el consumo excesivo de alcohol, la ingesta de carnes rojas y procesadas, la baja ingesta de verduras y frutas, la colonización de bacterias como *Fusobacterium nucleatum* y *Bacteroides fragilis*, etc (Dekker et al. 2019).

La utilización de medidas higiénico-dietéticas para modificar estos hábitos en otros más saludables puede prevenir la aparición de este cáncer: realización de actividad física regular, dieta saludable y rica en fibra, abandono del hábito tabáquico y alcohólico, etc. En cuanto a la prevención secundaria, el screening poblacional consistente en la prueba de sangre oculta en heces y la colonoscopia han revolucionado el diagnóstico precoz. Esto es así porque permite un tratamiento en estadios iniciales, lo que mejora el pronóstico de supervivencia de estos pacientes (Thanikachalam y Khan, 2019).

La mayoría de los CCR son esporádicos, y suelen aparecer a partir de la malignización de un pólipo o adenoma benigno. Atendiendo a la patogénesis del cáncer colorrectal, existen múltiples vías por las que se desarrolla este cáncer (Dekker et al. 2019). De ellas, la vía de la inestabilidad cromosómica es la más frecuente, especialmente en los tumores del lado izquierdo. El epitelio intestinal sufre un acúmulo de mutaciones somáticas como consecuencia de la actuación mantenida de los factores de riesgo, resultando en cáncer en un periodo estimado de 10 a 15 años. En primer lugar, sobre el epitelio normal se produce una mutación del gen APC, dando lugar a criptas aberrantes y a tejido hiperproliferativo epitelial. Este epitelio va aumentando su tamaño y sufre una segunda mutación, la correspondiente al gen COX-2, que origina un adenoma pequeño. Sobre este adenoma se genera una tercera mutación, la del gen K-RAS, inutilizando los mecanismos de control de la proliferación celular, y apareciendo así un adenoma grande, sobre el que se produce una cuarta mutación, la del gen P53 supresor de tumores, inhibiendo la apoptosis de células tumorales, que se multiplicarán y seguirán sufriendo mutaciones hasta la aparición del carcinoma (Dekker et al. 2019; Nguyen et al. 2020).

Otra vía es la denominada inestabilidad de los microsatélites. En ella, se producen mutaciones germinales sobre genes reparadores de los errores de replicación del ADN, lo que comporta un acúmulo de mutaciones en todo el genoma, en pequeñas secuencias repetitivas de ADN (microsatélites). Esta vía aparece con más frecuencia en los CCR de lado derecho, es la vía típica por la que se desarrolla el Síndrome de Lynch, y además se caracteriza por presentar mayor resistencia a la quimioterapia (QT) que otras vías (Nguyen et al. 2020). La vía de la metilación de genes reparadores del ADN se produce porque mutaciones somáticas provocan la metilación de regiones promotoras de gen (islotos GpC), por ejemplo, sobre el gen HMLH1. Son cánceres parecidos en comportamiento, forma y distribución a la vía de inestabilidad microsatélite (Nguyen et al. 2020). Finalmente, se ha descrito la vía alterna o serrada, producida por mutaciones en BRAF y KRAS que generan tumores serrados en colon derecho e izquierdo, respectivamente (Dekker et al. 2019; Nguyen et al. 2020).

Dependiendo de la patogénesis del cáncer, se aplicará un tratamiento u otro. En líneas generales, en el cáncer de colon, si el tejido tumoral no sobrepasa la mucosa, se puede tratar mediante resección endoscópica de la zona afecta. Si la sobrepasa, el tratamiento quirúrgico será el de elección, y dependerá de la localización del tumor (hemicolectomía derecha, derecha ampliada, izquierda, sigmoidectomía, etc), estando asociado a una linfadenectomía diagnóstica. En estadios avanzados con afectación ganglionar, se aplicarán distintas combinaciones de quimioterápicos previos a la cirugía (neoadyuvancia) y tras la cirugía (adyuvancia) (de Teresa et al. 2021). Los quimioterápicos más utilizados son el 5-fluorouracilo (5-FU) y la capecitabina, habitualmente asociados a leucovorina u oxaliplatino. También se dispone de agentes que inhiben la angiogénesis, como el bevacizumab; o que bloquean el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), como el cetuximab y panitumumab, que se pautarán dependiendo del estado de mutación del gen KRAS; entre otros muchos fármacos que actúan sobre distintas dianas terapéuticas (de Teresa et al. 2021).

En cuanto al tratamiento del cáncer de recto, definido como aquel que se encuentra por debajo de quince centímetros del margen anal, el tipo de resección quirúrgica a realizar variará según la localización del tumor, puesto que siempre debe existir un margen de resección libre de cinco centímetros. La cirugía incluirá la escisión parcial o total del mesorrecto, y los estadios avanzados se beneficiarán de neoadyuvancia y adyuvancia con radioterapia (RT) y QT (de Teresa et al. 2021).

2.3 JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

La elevada prevalencia del cáncer colorrectal a nivel mundial, así como la necesidad de encontrar terapias más seguras y eficaces en el tratamiento de esta enfermedad en sus diferentes estadios, justifican la idea de realizar este trabajo.

La melatonina, que es una molécula natural presente en los seres vivos, cobra importancia en el control de numerosas funciones fisiológicas del organismo. Alteraciones en la secreción de esta indolamina intervienen en la fisiopatología del cáncer colorrectal, lo que sugiere que esta sustancia podría ejercer un papel terapéutico en esta enfermedad. Además, estudios recientes han analizado las capacidades antitumorales que presenta en diferentes cánceres, y por todo ello resulta interesante discernir la participación de esta molécula en el tratamiento del cáncer colorrectal. De esta manera, los objetivos principales de este trabajo son:

1. Conocer las alteraciones fisiopatológicas que llevan al desarrollo del carcinoma colorrectal, para identificar las posibles dianas terapéuticas del mismo.
2. Estudiar el papel de la melatonina en la fisiología del organismo y su relación con la patogénesis del cáncer colorrectal.
3. Analizar la implicación de la melatonina en el carcinoma colorrectal, describiendo las vías por las que esta sustancia permite la limitación de esta patología.
4. Conocer el resultado que proporcionan los diferentes ensayos clínicos que estudian su uso en pacientes afectados de esta patología.
5. Determinar si existe en la literatura científica suficiente evidencia que justifique el uso de esta molécula como tratamiento en esta enfermedad.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Estrategia de búsqueda

La estrategia de búsqueda ha sido diferente para la introducción y para los resultados, siendo independiente la una de la otra.

Para la introducción, se han utilizado las bases de datos de Pubmed y Web of Science (WOS). Los descriptores utilizados han sido “melatonin”, “functions”, “physiological effects”, “pharmacology”, combinados en diferentes búsquedas con el operador booleano “AND”. También se han usado los descriptores “colorectal neoplasms”, “epidemiology”, “pathogenesis”, “carcinogenesis”, combinados en diferentes búsquedas con el operador booleano “AND”. Además, se han visitado páginas web que informan de las cifras de cáncer en la actualidad, como son Globocan y la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM).

Para los resultados, se han utilizado las bases de datos de Pubmed, SciELO, WOS y NCBI, encontrando artículos de revistas científicas como The Lancet, Journal of Pineal Research, Journal of Cellular Physiology, European Journal of Pharmacology, Clinical Medicine Insights: Oncology, International Journal of Molecular Sciences, BioMed Research International, Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation, etc. Los descriptores utilizados han sido: “melatonin” y “colorectal cancer”, unidos con el operador booleano “AND”. Estas palabras clave se combinaron con los siguientes descriptores para encontrar los artículos de mayor interés: “therapeutic actions”, “apoptosis”, “autophagy”, “angiogenesis”, “cellular proliferation”, “signaling pathways”, “gut microbiota”, “sleeping disorders”, “antioxidant”, “metastasis”, “chemotherapy”, “radiotherapy”.

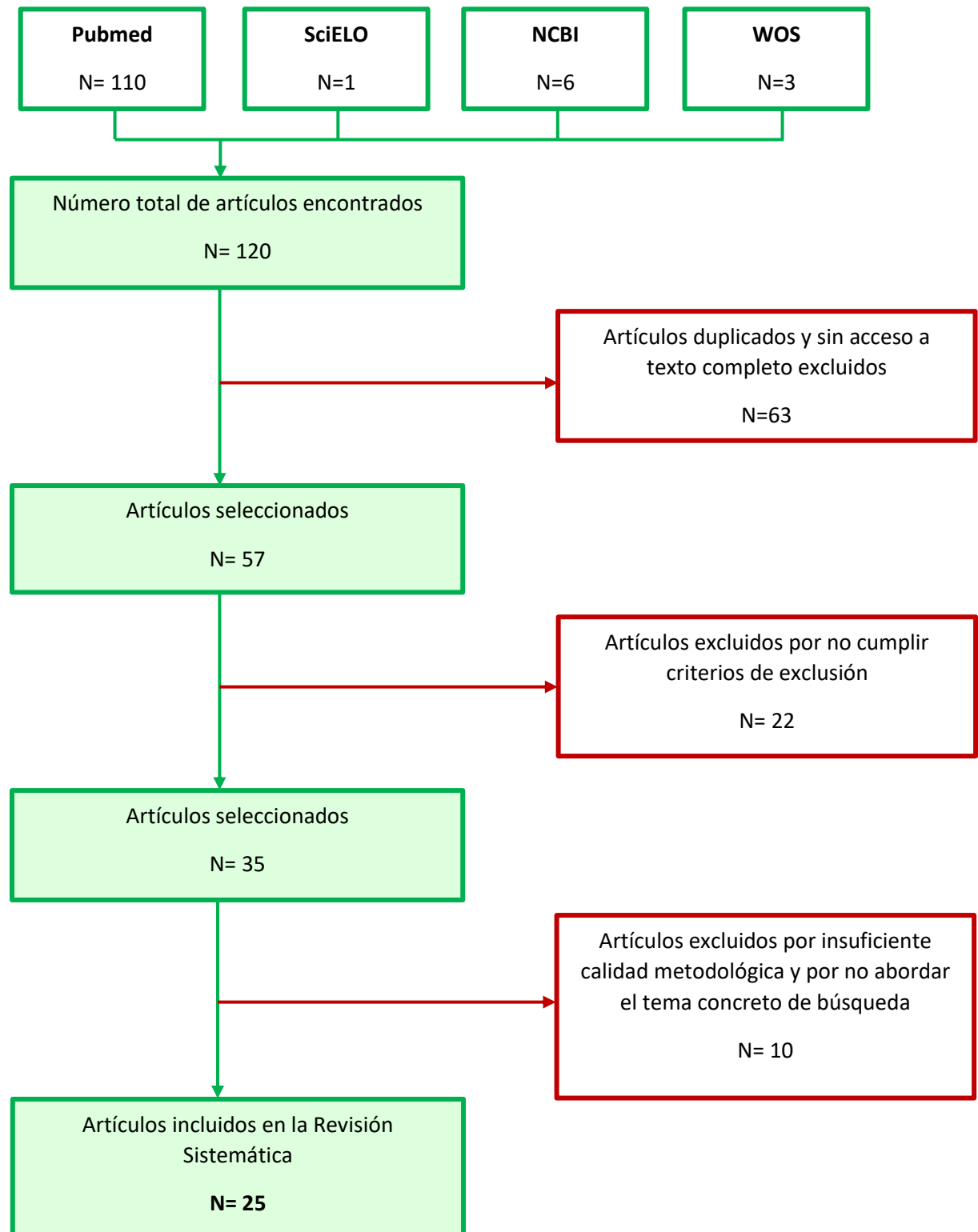
3.2 Criterios de inclusión y exclusión

Se han incluido artículos de tipo metaanálisis, revisiones sistemáticas, ensayos clínicos controlados y ensayos clínicos realizados sobre líneas celulares y modelos murinos, con disponibilidad en los idiomas inglés o español. Los artículos son con acceso a texto completo y se han priorizado aquellos publicados en los últimos 5 años, incluyendo alguno de años previos.

Se han excluido aquellos artículos que no presentaban la calidad metodológica suficiente, así como los que no abordaban de manera adecuada el tema concreto de búsqueda o los que no aportaban información relevante. Se han descartado todos aquellos que no cumplen los criterios de inclusión descritos previamente.

3.3 Tabla explicativa

Figura 1. Diagrama de flujo de la búsqueda bibliográfica



4. RESULTADOS

4.1 APOPTOSIS, AUTOFAGIA Y FRENO CELULAR

Los procesos de reparación del ADN comprenden la detección del daño en el ADN y el reclutamiento de moléculas apropiadas para su reparación. En caso de que esta reparación no sea posible, son capaces de inducir apoptosis, senescencia celular y de detener el ciclo celular. Todo ello está mediado por diferentes genes reparadores de ADN, tales como el ATM, ATR, BRCA1 y 2, 53BP1, RPA y p53. De esta manera, las mutaciones en estos genes pueden permitir la proliferación de las células tumorales y finalmente la aparición de cáncer (Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020). La melatonina es capaz de modular diferentes mediadores y transductores que intervienen en estos procesos de reparación, apoptosis y autofagia, además de inhibir la proliferación de células tumorales, derivándose de estas acciones sus efectos anticancerígenos. Así, diversos estudios demostraron que la melatonina regula la expresión de los genes p53 y p21 a través de los receptores MT1 y MT2 para prevenir la aparición de CCR o eliminar las células de CCR (Chok et al. 2019).

4.1.1 Apoptosis

Las células cancerosas pueden evadir la apoptosis y crecer incontrolablemente. La apoptosis está mediada por las caspasas, enzimas proteolíticas que de manera fisiológica destruyen células dañadas o no funcionales, a través de diferentes vías: intrínseca, extrínseca, y también por la vía de la perforina/granzima (Chok et al. 2019; Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020). La melatonina aumenta la expresión de p53, activa a la caspasa 3 y a la subfamilia Bax pro-apoptótica para inducir la apoptosis en células HCT116 (Hong et al. 2014; Pourhanifeh et al. 2020).

Otro estudio reciente describe como la melatonina fue capaz de inducir la apoptosis en la línea tumoral de CCR SNU-C5/WT al reducir drásticamente los niveles de proteína priónica celular (PrPc) y de quinasa 1 inducida por PTEN (PINK-1) (Yun et al. 2018). La primera es una glicoproteína de membrana que se expresa de manera ubicua en el organismo, y está implicada en la proliferación, apoptosis, invasión y quimiorresistencia de diversos tumores (Maroufi et al. 2020). La segunda protege a las células del estrés oxidativo mitocondrial, de manera que la melatonina, al reducirla, indujo apoptosis en estas células, y la supresión de PrPC potenció el efecto. Además, la melatonina puede inducir la apoptosis celular al disminuir los niveles de calcio en el retículo endoplasmático, provocando estrés celular oxidativo y finalmente su apoptosis (Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020).

Hay que destacar que la melatonina es conocida por sus efectos antioxidantes, que pueden contradecir los efectos prooxidantes mencionados anteriormente, pero se ha comprobado que este efecto antioxidante es menos significativo en células tumorales que en células sanas (Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020). De hecho, diversos estudios mostraron que la melatonina promueve la supervivencia de células sanas a través de propiedades antioxidantes, pero de manera selectiva induce la apoptosis de células tumorales mediante estrés oxidativo celular (Chok et al. 2019). Tanto es así que la melatonina redujo su capacidad antioxidante e incluso aumentó la producción de RL para causar la muerte celular en células HCT116 (Chok et al. 2019).

La exposición de células Caco-2 a melatonina induce cambios morfológicos que llevan a la apoptosis, como son la fragmentación nuclear, la formación de vacuolas, la pérdida de microvellosidades y la degradación mitocondrial (Chok et al. 2019; Pourhanifeh et al. 2020). Se ha demostrado que en el CCR hay niveles plasmáticos aumentados de endotelina-1 (ET-1), una proteína vasomotora que podría favorecer la proliferación y migración celulares, además de la inhibición de la apoptosis. La melatonina es capaz de inhibir la producción de ET-1 mediante la inactivación de FoxO1 y NF- κ B (Chok et al. 2019).

La supresión de la acción de la histona deacetilasa 4 aumenta la transcripción del gen p21, inhibe el crecimiento y provoca la apoptosis de células HCT116. Además, la inhibición de la proteína cinasa II dependiente de Ca^{2+} /calmodulina (CAMKIIa) mediada por la melatonina induce la activación de las caspasas, que escinden la histona deacetilasa 4 y finalmente provocan apoptosis en las células CCR (Chok et al. 2019).

4.1.2 Autofagia

La autofagia es un proceso íntimamente relacionado con la apoptosis y la senescencia celular, que tiene como objeto eliminar los orgánulos y proteínas celulares dañadas. Esto lo realiza a partir de la formación del autofagosoma que, al unirse a un lisosoma, ocasiona la destrucción de las estructuras presentes en su interior. Recientemente se ha descrito que la melatonina aumentó la expresión de mediadores clave en la autofagia al inhibir la señalización AKT, como el beclin-1 en células HCT-116, favoreciendo la senescencia celular (Hong et al. 2014; Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020; Pourhanifeh et al. 2020). La acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS) mitocondriales o exógenas pueden dañar el ADN mitocondrial y nuclear, causar mutaciones y finalmente cáncer. La melatonina puede reducir las ROS ya que es un potente antioxidante, pero en el caso de que no fuese así, podría inducir la autofagia y reemplazar las organelas dañadas por nuevas sanas (Chok et al. 2019).

4.1.3 Freno celular

El fracaso de los mecanismos de apoptosis y de autofagia deja vía libre a las células tumorales para multiplicarse de forma descontrolada, pudiendo invadir a los tejidos adyacentes y provocar metástasis a distancia. La proliferación celular está regulada por quinasas dependientes de ciclina y múltiples mediadores, tales como p21, p27, p57, p16, p15, los cuales establecen puntos de control en el ciclo celular, limitando la reproducción celular y estimulando la reparación del ADN, autofagia y apoptosis en caso de ser necesario (Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020). La disfunción de múltiples vías de señalización celular favorece el desarrollo de CCR, entre ellas destacan la vía de señalización Notch y la vía de la fosfatidilinositol-3-kinasa (PI3K/AKT), cuya activación excesiva anormal se ha visto relacionada con alteraciones en los mecanismos de control de crecimiento y supervivencia celulares, propiciando la proliferación de células tumorales (Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020). La última vía está relacionada con el factor de transcripción de genes antiapoptóticos NF- κ B, cuya sobreexpresión se ha asociado a CCR resistente a QT. La melatonina es capaz de unirse de manera específica a ROR, impedir la traslocación del NF- κ B al núcleo, e inhibir finalmente la proliferación de células tumorales (Chok et al. 2019). Además, la melatonina inhibe el exceso de activación de β -catenina, molécula que aumenta la ciclina D1 que interviene en la transición G1/S del ciclo celular. Se ha comprobado que en el CCR la sobreexpresión de AKT-2 aumenta la traslocación nuclear de β -catenina, lo que determina proliferación celular. Actuando sobre la β -catenina, la melatonina podría reducir la proliferación excesiva en los tumores colorrectales (Chok et al. 2019).

La melatonina inhibe la proliferación celular de la línea HT-29 al unirse a sus receptores nucleares específicos y al reducir el NO generado por estas células (Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020). Este efecto también se ha observado en la línea CT-26, incluso a concentraciones de melatonina muy pequeñas (Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020).

La calmodulina (CaM) es una proteína citosólica de unión a calcio, implicada en la regulación de las distintas fases del ciclo celular, permite la entrada de calcio al interior celular y propicia así la tumorigénesis y proliferación celular (Chok et al. 2019). Durante la transición G1/S la calmodulina favorece la replicación del ADN, y durante la fase G2 la calmodulina induce la entrada de la célula en mitosis (Chok et al. 2019). Además, inhibe el ensamblaje de microtúbulos (Benítez-King 2006). La melatonina puede impedir la unión calmodulina-calcio, favoreciendo un reordenamiento del citoesqueleto a dosis nanomolares, mientras que en ausencia de calcio, a dosis micromolares la melatonina se une a la tubulina e induce una desorganización del citoesqueleto (Benítez-King 2006). La inhibición de CaM por la melatonina después de la fase G2

celular, provocaría una alteración en el huso y en la división celular (Chok et al. 2019; Argueta et al. 2022).

La CaMKII se ha visto sobreexpresada en células HCT116, pudiendo promover la proliferación, migración e invasión de células CCR. La vía ERK1/2 interviene en el ciclo celular, y está sobreexpresada en el CCR como consecuencia de mutaciones en el gen K-RAS y EGFR. La inhibición de CaMKII por la melatonina condujo a la inactivación de las vías ERK, MAPK y AKT, aumentando la expresión de p21 e inhibiéndose así la proliferación celular (Chok et al. 2019).

Las vías de señalización celular están reguladas por microARN, los cuales son moléculas de ARN no codificante que a nivel post-transcripcional regulan la expresión génica. Algunos, como el microARN-24 favorecen la transformación maligna al estimular la proliferación y migración de células tumorales e interferir en la expresión de genes reparadores de ADN. El tratamiento con melatonina a largo plazo revirtió los efectos de microARN-24 y descendió sus niveles (Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020). Además, la melatonina incrementó la apoptosis y redujo la proliferación y viabilidad de células CCR de manera significativa al aumentar la expresión del cluster microARN 34a/449a *in vitro*, en las líneas celulares HCT116, LoVo, SW480, SW620, HT-29 y DLD-1; e *in vivo*, en ratones, mediante la inhibición de la subfamilia Bcl-2 anti-apoptótica y de Notch-1 (Ji et al. 2021).

Se ha propuesto que en las células sanas los receptores de melatonina impiden la proliferación celular descontrolada, mientras que la falta de estos receptores implica su crecimiento incontrolado, ya que se ha observado una mayor proliferación e invasión en líneas celulares de CCR cuando hay menor expresión de estos receptores (Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020). Sin embargo, su sobreexpresión podría encontrarse en las células tumorales como un mecanismo de compensación de niveles plasmáticos bajos de melatonina (Chok et al. 2019). En conclusión, niveles plasmáticos de melatonina reducidos o la disminución de los receptores de melatonina aumentarían finalmente el riesgo de desarrollar cáncer. De esta manera, la presencia de receptores de melatonina en las células cancerosas permitiría tratarlas con melatonina y con agonistas, como las quinureninas sintéticas. En este sentido, los agonistas de MT1 y MT2 inhibieron de manera dosis-dependiente la proliferación de células HT-29, siendo más eficientes las quinureninas que la propia melatonina (Chok et al. 2019). También, el ácido linoleico es una molécula de señalización del crecimiento tumoral. La activación de MT2 supone un bloqueo de la absorción de este ácido tanto en células sanas como cancerosas, disminuyendo finalmente la proliferación tumoral (Chok et al. 2019).

4.2 ANGIOGÉNESIS, MIGRACIÓN CELULAR Y METÁSTASIS

Las células tumorales pueden migrar e invadir distintos tejidos produciendo metástasis. En este sentido, tienen la capacidad de estimular la angiogénesis para garantizar un soporte nutricional tumoral y además favorecer la migración celular; pueden invadir la matriz extracelular alterando las proteínas de adhesión y estimulando a proteasas que vulneran la membrana basal, entre otras vías; finalmente pueden diseminar por vía linfática y sanguínea y multiplicarse en tejidos periféricos dando lugar a metástasis, todo ello evadiendo al SI y siendo favorecidos por factores que generan el ambiente ideal para su expansión.

La melatonina dificulta la angiogénesis al bloquear la expresión del factor 1α inducido por hipoxia (HIF- 1α), y así la expresión de genes bajo su control implicados en la angiogénesis, como el factor del crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento epidérmico (EGF), óxido nítrico sintasa inducible (iNOS), factor de crecimiento transformante β (TGF- β), etc (Chok et al. 2019; Wu et al. 2019; Kvietkauskas et al. 2020).

La ciclooxygenasa 2 (COX-2) y prostaglandina E2 están sobreexpresadas en las células Caco-2, estimuladas por los factores de crecimiento similares a insulina 1 y 2. La inhibición de estas moléculas proinflamatorias, además del NO, podría reducir la angiogénesis y favorecer la apoptosis en el tumor, previniendo la aparición de metástasis (Chok et al. 2019). La melatonina reducía la inflamación mediada por COX-2 y NO en la colitis inducida y así, prevenía indirectamente el desarrollo de CCR (Chok et al. 2019). Otra molécula implicada en la angiogénesis del CCR es la ET-1, y la melatonina la reduce produciendo apoptosis al inactivar FoxO-1 y NF- κ B (Chok et al. 2019; Wu et al. 2019).

También, la melatonina inhibe la invasión y metástasis al reducir la transición epitelio-mesénquima como consecuencia del bloqueo de las vías de NF- κ B y C/EBP β (Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020). La transición epitelio-mesénquima es un mecanismo por el cual las células epiteliales pierden su adherencia y polaridad características para convertirse en células mesenquimales con capacidad migratoria, de manera que, si involucra a las células tumorales epiteliales, aumenta su capacidad invasora y metastática.

La fosforilación de las cadenas ligeras de miosina (MLC) por la quinasa de cadenas ligeras de miosina (MLCK) altera las uniones estrechas celulares, formadas por proteínas como ocludina y zónula occludens-1. Esta disrupción favorece la migración e invasión de células tumorales. Un estudio reciente propuso que el tratamiento con melatonina de la línea celular RKO inhibía a la acción de MLCK al reducir la expresión de la proteína quinasa activada por mitógeno p38 (p38/MAPK), consiguiendo finalmente impedir la migración y proliferación de células tumorales.

La melatonina redujo la migración de células tumorales RKO al limitar la expresión de la proteína quinasa asociada a Rho (ROCK), implicada en la regulación del citoesqueleto, disminuyendo los niveles de fosfo-MLC, fosfo-MYPT1, fosfo-p38, y aumentando la expresión de ocludina y zónula occludens-1 (Liu et al. 2017; Chok et al. 2019; Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020; Pourhanifeh et al. 2020).

La expresión de los receptores de melatonina en el CCR está alterada. Las expresiones de NAT, de MT1 y MT2 estaban disminuidas en tejido el tumoral del CCR al compararse con la mucosa sana. La expresión de NAT y MT2 fue menor en estadios avanzados del CCR en tumores p53 salvaje, es decir, en los tumores que p53 no estaba mutado; con expresión elevada de CD44 y CD66, los cuales son marcadores de células madre del CCR (Casado et al. 2017; Maroufi et al. 2020; Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020).

4.3 EFECTOS ANTIOXIDANTES

Los RL son sustancias inestables capaces de robar electrones de otras moléculas, tales como proteínas, alterando su estructura y condicionando trastornos en su función que pueden llevar a la aparición de enfermedad. La melatonina ejerce una acción antioxidante de manera fisiológica al neutralizar estos RL de manera directa e indirectamente al activar los sistemas enzimáticos intracelulares antioxidantes.

La radioterapia persigue destruir las células tumorales al dañar su ADN de manera directa o de manera indirecta mediante la generación de RL. Este daño genético induce la muerte celular a través de varios mecanismos, como la apoptosis, la necrosis, la necroptosis y la autofagia. Como inconvenientes, la radiación estimula la inflamación y el metabolismo de reducción-oxidación (redox), con el consiguiente aumento de la producción de citoquinas y del estrés oxidativo, mayor inestabilidad genómica y muerte celular, afectando a su vez a tejidos sanos como el sistema hematopoyético y GI (Farhood et al. 2018). Naturalmente, un radioprotector apropiado debería proteger selectivamente los tejidos sanos sin menoscabar la respuesta tumoricida. Un buen radiosensibilizador no debería aumentar la toxicidad en los tejidos sanos.

El pretratamiento *in vitro* con melatonina sobre células de sangre periférica humana expuestas a radiación gamma ocasionó una disminución significativa del daño cromosómico inducido por radiación en dependencia de la dosis, en comparación con las células irradiadas que no recibieron el pretratamiento (Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020). Similares resultados se observan en muestras de sangre periférica de pacientes tratados con melatonina oral expuestas

a radiación gamma in vitro, que exhibieron una disminución significativa del daño primario del ADN linfocitario en comparación con los linfocitos irradiados procedentes muestras de sangre recolectadas antes de la ingestión de melatonina (Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020). Esto demuestra que las células sanas expuestas a radiación, en presencia de melatonina presentan menores tasas de alteraciones y mutaciones en el ADN gracias a su acción antioxidante (Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020).

Del mismo modo, la melatonina inhibe considerablemente la mutagenicidad inducida por diferentes carcinógenos. Algunos ejemplos son que restringe el daño genético inducido por cisplatino en la médula ósea de ratones, disminuye la formación de aductos de ADN hepáticos originados por safrol en ratas y protege a los hepatocitos de rata frente a roturas de cadena sencilla de ADN inducidas por cromo in vitro (Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020).

Las especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno también tienen efectos beneficiosos, puesto que median la destrucción de agentes infecciosos mediante fagocitosis, y actúan como mensajeros en diversas vías de señalización celular involucradas en el crecimiento celular, la diferenciación y las respuestas inflamatorias (Kvietkauskas et al. 2020). Por ello es necesario que exista un equilibrio entre los efectos nocivos y beneficiosos de estas especies reactivas. Los niveles de RL se encuentran elevados en distintos tipos de cáncer promoviendo la progresión tumoral. Así, los niveles de superóxido en estado estacionario fueron de 5 a 20 veces mayores en células CCR comparadas con los presentes en células colónicas sanas (Kvietkauskas et al. 2020).

La melatonina puede modular su acción sobre el estrés oxidativo favoreciendo de manera selectiva la producción de ROS en células tumorales del CCR para inducir su apoptosis, y en cambio, protegiendo a las células sanas de la acción de RL (Kvietkauskas et al. 2020). Estas características convierten a la melatonina en un radioprotector y radiosensibilizador excelente. Una explicación plausible de este fenómeno es la diferencia metabólica entre células tumorales y sanas, entre otros mecanismos. Las primeras consiguen energía principalmente a partir de la glucólisis anaerobia, mientras que las sanas lo hacen a través de la fosforilación oxidativa. El aumento de la glucólisis anaerobia en relación con la fosforilación oxidativa en células tumorales se asocia con mayor resistencia al tratamiento del CCR. La melatonina impulsa el metabolismo aeróbico y reduce la glucólisis en células tumorales, lo que conduce a una producción elevada de ROS mitocondriales y una disminución de la proliferación en estas células (Farhood et al. 2018).

4.4 INMUNOMODULACIÓN

El SI está formado por una red de mediadores, células y órganos que se encargan de proteger al organismo de las agresiones procedentes tanto del medio externo como del interno. Los LT citotóxicos CD8⁺ se encargan de la destrucción de las células tumorales y los LT helper CD4⁺ favorecen esta acción (Chok et al. 2019). La melatonina actúa sobre el SI para regular su función basal, y se ha demostrado que en condiciones normales es capaz de aumentar los niveles de LT y LB al inhibir la apoptosis de sus precursores, de células natural killer (NK), de macrófagos y de neutrófilos. Además, favorece la quimiotaxis de estas moléculas y es capaz de aumentar el tamaño del bazo, y con todo ello puede prevenir así la aparición de células malignas (Chok et al. 2019; Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020).

La melatonina intensifica la expresión de las interleucinas IL-2, IL-6 e IL-12, que estimulan a las células NK y también potencia la respuesta tipo TH1 llevada a cabo por los LT helper. Las células NK forman parte del SI innato, y su función reside fundamentalmente en destruir células neoplásicas e infectadas. Estas células NK destruyen células del CCR a través de interacciones receptor-ligando y de la liberación de perforina y granzima B (Chok et al. 2019). La respuesta TH1 pertenece a la respuesta inmune adaptativa, mediada por la inmunidad celular, en la cual se produce interferón gamma (IFN- γ) e IL-12, los cuales favorecen a su vez la acción antitumoral de las células NK (Chok et al. 2019; Kvietkauskas et al. 2020; Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020). Se ha sugerido que la monitorización de las citoquinas anteriores podría utilizarse para el seguimiento del CCR e incluso para el tratamiento de este (Chok et al. 2019).

Además, en pacientes con CCR se demostró que la producción de IFN- γ y TNF- α se encuentra disminuida en comparación con personas sanas, lo que proporciona evidencia de la supresión de la función inmune inducida por el tumor en pacientes con CCR (Chok et al. 2019).

La exposición a la melatonina podría disminuir los índices mitóticos en los adenocarcinomas colónicos y disminuir la expresión de mediadores inflamatorios como el NF- κ B, TNF- α , IL-1 β , y STAT3 en las neoplasias malignas epiteliales (Wu et al. 2019). Asimismo, la melatonina es capaz de suavizar la respuesta inmune en situaciones de inflamación crónica y de activación excesiva anormal del SI, como en la enfermedad inflamatoria intestinal, al reducir la expresión de mediadores como IL-1 β , IL-6, TNF- α , y de enzimas como MMP-9, MMP-2, y amilasa. Existe un riesgo aumentado de neoplasia colorrectal en los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal que afecta al colon, de manera que la melatonina tendría un papel protector frente al desarrollo de CCR en estos enfermos (Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020).

4.5 SINERGIA CON LAS TERAPIAS ACTUALES EN EL CCR: QUIMIO Y RADIOTERAPIA

Los tratamientos disponibles para el CCR incluyen el uso de 5-FU y derivados de platino, además de nuevos agentes como son el cetuximab, regorafenib, irinotecán, capecitabina y bevacizumab. Estos consiguen su efecto citotóxico al producir daño en el ADN celular; al activar los mecanismos de protección celular, como son la apoptosis, autofagia y senescencia; y al inhibir genes como el EGFR o VEGF, que promueven la proliferación y progresión tumorales, entre otros (Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020).

La sensibilidad reducida y la resistencia de las células tumorales a los agentes antineoplásicos y a la RT pueden surgir como resultado de la inestabilidad genómica de estas células. Las mutaciones genéticas propias de las células malignas proporcionan diversos mecanismos para que resistan a las terapias citotóxicas, y la melatonina puede corregir estas alteraciones aumentando la sensibilidad a las terapias contra el CCR a través de distintas vías: modulando la expresión y el estado de fosforilación de las dianas farmacológicas, reduciendo el aclaramiento de los fármacos al afectar a su metabolismo y transporte, disminuyendo la supervivencia de las células malignas mediante la alteración de la reparación del ADN y la actividad de la telomerasa, y favoreciendo la apoptosis y la autofagia (Asghari et al. 2018).

La adición de melatonina a los fármacos usados para el tratamiento del CCR tiene como objetivos reducir los efectos tóxicos de la QT sobre las células sanas y fortalecer la eficacia terapéutica de la QT sobre las células tumorales (Chok et al. 2019). En este sentido, diversos estudios han demostrado que la melatonina aumenta la citotoxicidad específica de los quimioterápicos contra el CCR, incluidos la doxorubicina, el irinotecán, el cisplatino, el oxaliplatino y el 5-FU, en diferentes líneas celulares de CCR abarcando aquellas resistentes a dichos fármacos. Todo ello teniendo en cuenta que la melatonina no fue capaz de inducir daños en el ADN de células humanas sanas (Kvietkauskas et al. 2020).

Los principales mecanismos que dispone la melatonina para suprimir el crecimiento tumoral, la proliferación y la angiogénesis mediada por tumores incluyen la activación de la apoptosis a través de la modulación simultánea de las vías de señalización de citocromo c/caspasa, metalopeptidasa de matriz 9 (MMP9)/COX-2 y p300/NF- κ B; la supresión de las vías de señalización de PI3K/AKT y NF- κ B/iNOS; y la disminución de PrPC (Kvietkauskas et al. 2020).

La melatonina, en combinación con quimioterápicos para el tratamiento de tumores sólidos entre los que se incluía el CCR, demostró aumentar un año la supervivencia, además de conseguir mayores tasas de remisión tumoral y una merma en los efectos adversos derivados de la QT (Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020).

La melatonina aumenta la citotoxicidad y sensibilidad al tratamiento con 5-FU de las células HT-29, demostrada por un incremento en la activación de la caspasa 3 tras el tratamiento combinado. Este efecto potenciador de la melatonina está mediado por la estimulación del receptor MT3 (Pariente et al. 2018; Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020). Se ha descrito que la melatonina ayudó a vencer la resistencia al 5-FU al reducir la expresión de timidilato sintasa, la cual es una enzima necesaria para síntesis y reparación del ADN, gracias al aumento del microARN-215-5p en una variedad de líneas celulares de CCR (Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020). También, la combinación de melatonina y 5-FU inhibió la proliferación celular en las líneas celulares SW620 y LoVo al suprimir las vías de señalización de PI3K/AKT y NF- κ B/iNOS. Esta combinación aplicada sobre un modelo de ratón transgénico con CCR provocó una reducción en la migración e invasión celulares demostrada por la reducción de MMP9 y de N-cadherina, marcadores de estos procesos, mientras que la E-cadherina se vio aumentada (Gao et al. 2017; Chok et al. 2019).

Las células madre tumorales podrían ser responsables de la resistencia a los distintos tratamientos. Se ha observado que el marcador de células tumorales Oct4 salvaguarda la pluripotencialidad e inhibe la apoptosis inducida por QT en células madre del CCR, además de intervenir en la migración, invasión y metástasis tumorales colorrectales (Maroufi et al. 2020). A su vez, se ha comprobado que existe una correlación significativa entre la expresión de PrPC y de Oct4 con la existencia de estadios avanzados del tumor y la tasa de metástasis (Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020). A este respecto, se constató que el tratamiento combinado de melatonina con 5-FU inhibe los marcadores de células madre Oct4, Nanog, Sox2 y ALDH1A1 al bloquear la expresión de PrPC, lo que da como resultado la detención del crecimiento, la proliferación y la angiogénesis tumorales (Lee et al. 2018 a; Kvietkauskas et al. 2020).

La melatonina redujo la resistencia a oxaliplatino en células SNU-C5/Oxal-R, las cuales son CCR resistentes a este fármaco, al inhibir la expresión de PrPC, ocasionando así un aumento de la apoptosis, del estrés en el retículo endoplásmico, y de la producción de superóxido (Lee et al. 2018 b; Kvietkauskas et al. 2020; Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020).

El tratamiento de melatonina en combinación con doxorrubicina incrementó la sensibilidad a la doxorrubicina en células LoVo normales y LoVo_{DX}, las cuales son resistentes a este fármaco y expresan altos niveles de glicoproteína P, una proteína implicada en la resistencia farmacológica al favorecer la salida de fármacos de la célula. Este aumento de la sensibilidad sólo fue significativo a determinadas concentraciones de melatonina y doxorrubicina, lo que implica que

la acción de estas sustancias sobre la expresión de esta molécula no es clara y se requiere mayor investigación para dilucidar el impacto de estos fármacos sobre los mecanismos de resistencia de salida de fármacos de la célula (Fic et al. 2017; Asghari et al. 2018; Kvietkauskas et al. 2020; Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020).

La alteración en la activación de los receptores de colecistoquinina CCK-A y CCK-B se ha visto relacionada con el CCR. El tratamiento combinado de melatonina con antagonistas de los receptores de colecistoquinina, como lorglumida, devacepida y proglumida, consigue bloquear el receptor CCK-A y como consecuencia frenar la proliferación celular y aumentar la apoptosis en células HT-29 (Chok et al. 2019).

La melatonina potencia la apoptosis inducida por flavonas en células HT-29, al producir fragmentación nuclear, condensación de la cromatina, aumento del estrés oxidativo y de la actividad de las caspasas (Chok et al. 2019). En combinación con ácido ursólico, la melatonina inhibe la proliferación e induce la apoptosis de células SW480 y LoVo a través de la modulación simultánea de las vías de señalización del citocromo c/caspasa, MMP9/COX-2 y p300/NF-κB (Chok et al. 2019; Kvietkauskas et al. 2020).

El tratamiento conjunto de andrografolida, un compuesto bioactivo derivado de *Andrographis paniculata* con propiedades antiinflamatorias y antioxidantes, y melatonina en diversas líneas celulares (T84, Colo 205, HT-29 y DLD-1) y en modelos organoides derivados del paciente con CCR metastásico, promueve significativamente y de manera selectiva la muerte de las células CCR respetando las células sanas, al aumentar la expresión de caspasa 3, de proteínas de estrés del retículo endoplásmico, de los niveles de ROS, y de las moléculas de señalización de apoptosis BAX, XBP-1 y CHOP, además de observarse una disminución en la expresión de Ki-67 (Sharda et al. 2021).

La triple combinación de melatonina con dos metabolitos activos del irinotecán, SN38 y EF24, suprime el crecimiento tumoral en un modelo murino de CCR a través de una disminución de las ROS oncogénicas y un aumento de las oncosupresoras (Chok et al. 2019; Kvietkauskas et al. 2020). Otro estudio observó que la administración de octeótrido y melatonina por separado ejercen efectos antiproliferativos y proapoptóticos sobre el CCR en un modelo murino. Sin embargo, la combinación de ambos no mostró efectos aditivos (Kvietkauskas et al. 2020).

La RT está indicada en el CCR tanto con intención curativa como paliativa. El pretratamiento con melatonina aumentó la sensibilidad a la radiación ionizante (RI) *in vitro* e *in vivo*. Sobre células HCT116, la apoptosis aumentó significativamente después del tratamiento con melatonina más RI en comparación con melatonina o RI sola, con niveles incrementados de caspasa 3 y Bax

(proapoptótico) y niveles disminuidos de Bcl-2 (antiapoptótico). La melatonina disminuyó la expresión de genes reparadores de daños en el ADN, como son Rad51 y BRCA1, implicados en la inducción de resistencia a la RT antitumoral. También provocó arresto celular en G2/M, que fue esencial puesto que células detenidas en la fase G2/M tienen una mayor sensibilidad a la RI que las que se encuentran en otras fases. *In vivo*, el tratamiento combinado retardó el crecimiento tumoral de manera más efectiva que la melatonina o la RI solos, de manera que la melatonina hizo que el xenoinjerto tumoral en ratones fuera más sensible a la RI (Wang et al. 2018).

4.6 SUEÑO

La melatonina es el principal regulador del ciclo circadiano sueño-vigilia, y esto es posible debido al control que realiza sobre genes reloj, que son responsables de la mayoría de las funciones celulares. Alteraciones en la secreción de melatonina y en la expresión de genes reloj, resultantes de la privación o de trastornos del sueño, pueden permitir el desarrollo de CCR (Chok et al. 2019; Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020). La alteración en la regulación de los genes reloj en pacientes con CCR se ha asociado con mayores tamaños e invasión tumorales (Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020). Es más, los pacientes con trastornos del sueño tienen un riesgo aumentado de padecer CCR frente a pacientes sanos de manera significativa (Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020).

En personas que trabajan a turnos durante la noche como enfermeras que trabajaban 3 o más noches al mes durante un periodo de más de 15 años tenían un riesgo incrementado de desarrollar CCR. Esto puede explicarse en parte por una reducción en la producción de melatonina, puesto que se observó que 2 semanas de exposición a luz nocturna disminuyeron la producción de melatonina de manera significativa (Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020). Otros estudios realizados a pacientes con trastornos del sueño y a trabajadores con horarios nocturnos demostraron que tenían niveles disminuidos urinarios del metabolito 6-sulfatoximelatonina, que refleja los niveles plasmáticos de melatonina (Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020).

La expresión de genes reloj en órganos periféricos puede estar regulada por el núcleo supraquiasmático o ser independiente de este. Mutaciones en los genes reguladores del ritmo circadiano y la disminución de proteínas reguladoras circadianas a nivel del tracto colorrectal contribuyen al desarrollo de CCR. Mutaciones en genes reloj como el PER2 conducen a la progresión del CCR en células HCT116 y SW480 al aumentar la expresión de β -catenina. Ratones con esta mutación presentan una formación incrementada de pólipos colorrectales (Chok et al.

2019). Algunos polimorfismos de PER3 también se relacionan con el CCR. Los genes reloj CRY1 y 2 se encuentran sobreexpresados en muestras colónicas de pacientes con CCR y en varias líneas celulares de CCR, y se relacionan con peor pronóstico (Alexander et al. 2015; Mazzocchi et al. 2016; Chok et al. 2019). La activación del gen PER1 disminuye la proliferación celular e induce apoptosis mediada por p53, ATM y Chk2 en células HCT116 (Chok et al. 2019).

La iluminación constante podría causar focos de criptas aberrantes en el epitelio colorrectal y promover la proliferación de células colónicas de roedores. La suplementación de melatonina a estos roedores controla el crecimiento de las células en división e induce una mayor expresión de la proteína caspasa 3, ejerciendo un papel protector frente a los patrones preneoplásicos inducidos por la iluminación constante (Wu et al. 2019).

4.7 MICROBIOTA Y METABOLISMO LIPÍDICO INTESTINALES

A nivel del tracto GI, la mayoría de la melatonina procede de la síntesis en células enterocromafines intestinales, siendo solo una pequeña proporción la que proviene de la glándula pineal. La secreción de melatonina a nivel GI viene regulada por la ingestión y composición de los alimentos, pues sus niveles aumentan en gran medida tras la alimentación (Pan et al. 2022).

La melatonina pineal junto con su patrón de secreción ejerce un papel regulador sobre el correcto funcionamiento de la motilidad, secreción, inmunidad y microbiota intestinales. Si estos procesos se alteran y se ve afectado el peristaltismo, o existe gran inflamación intestinal, o se modifica la microbiota habitual, puede propiciarse el desarrollo de CCR, de manera que la melatonina puede prevenir su aparición mediante la regulación apropiada de dichos procesos (Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020).

La acción a nivel de la motilidad intestinal es importante, puesto que patologías derivadas de su alteración, como las hemorroides o la diverticulitis, pueden predisponer al CCR. En cuanto a la secreción intestinal, se ha observado que la administración de melatonina a ratas afectas de EII reduce la diarrea (Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020). Además, protege frente a la colitis al inhibir la MMP2, MMP9, iNOS, COX-2 y NF- κ B, y gracias a su papel inmunomodulador, está siendo considerada como una opción terapéutica para pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal, patología que predispone a CCR en muchos casos (Mirza-Aghazadeh-Attari et al. 2020).

La microbiota intestinal consta de más de 1000 especies de bacterias y la colonización es diferente en función del segmento intestinal estudiado. Está involucrada en los procesos de digestión y absorción, motilidad, regulación inmunológica, protección de la mucosa y metabolismo glicolípido intestinales. De ahí que alteraciones en el microbioma estén relacionadas con enfermedades como la EII, la obesidad y el CCR (Pan et al. 2022). Dichas alteraciones provocan anomalías en las vías de señalización celulares, produciendo inflamación de la mucosa intestinal que si permanece de manera crónica puede favorecer la formación de adenomas inflamatorios y CCR (Pan et al. 2022).

La composición de la microbiota en pacientes con CCR puede variar según el estadio de la enfermedad. *Erysipelotrichia* y *Fusobacteria* aumentan en las heces de pacientes con pólipos serrados. *Bilophila*, *Desulfovibrio*, *Corynebacterium* y *Phascolarctobacterium* aumentan en las heces de pacientes con adenomas convencionales. En la mucosa intestinal de pacientes con adenocarcinoma, se incrementa la cantidad de *Proteobacteria* como *Pseudomonas*, *Helicobacter* y *Acinetobacter*. Algunas bacterias patógenas como *Bacteroides fragilis*, *E. coli* y *Fusobacterium nucleatum*, muestran una tendencia creciente con la evolución del CCR. Esta última podría inhibir a los LT CD4⁺ en el CCR, provocando un crecimiento tumoral descontrolado (Pan et al. 2022).

La melatonina es capaz de reducir la obesidad al normalizar el microbioma intestinal de ratones obesos. El tratamiento con la indolamina aumentó la cantidad de bacterias beneficiosas como *Akkermansia* y redujo otras dañinas, como *Alistipes*, *Anaerotruncus* y *Helicobacter marmotae*, para reducir y prevenir la obesidad (Pan et al. 2022). Las dietas ricas en grasas son capaces de modificar el microbioma habitual y generar disbacteriosis, siendo este uno de los principales factores de riesgo del CCR relacionado con la obesidad, por lo que la interacción entre la microbiota intestinal y la obesidad desempeña un papel importante en el desarrollo del CCR (Pan et al. 2022).

No hay consenso sobre el papel de la melatonina en la adipogénesis, puesto que unos estudios revelan que induce la diferenciación de preadipocitos y la adipogénesis, mientras que otros afirman que suprime estos procesos. Por tanto, el mecanismo de la adipogénesis mediada por melatonina sigue sin estar claro y se necesita más investigación en este campo (Pan et al. 2022). El propósito principal del aumento en la síntesis de novo de ácidos grasos en el CCR es disponer de más lípidos en la membrana celular para apoyar la rápida proliferación de células cancerosas y la creciente demanda de energía. Los principales mediadores de la lipogénesis son SREBP, acetil-CoA carboxilasa, la sintasa de ácidos grasos y la esteroil-CoA desaturasa 1, los cuales

estimulan NF- κ B, la EMT, MMP7, entre otros, y finalmente la progresión del tumor. Se ha demostrado que la melatonina puede actuar bloqueando la expresión de estos genes inhibiendo la lipogénesis y finalmente la expansión de CCR (Pan et al. 2022). El tratamiento de melatonina en ratones obesos disminuyó la síntesis de triglicéridos al reducir la expresión de genes como Agpat-2, Lpl y Dgat2 (Pan et al. 2022).

La lipólisis induce la liberación de ácidos grasos libres y glicerol a partir de los lípidos almacenados en los adipocitos para su utilización por otros tejidos o células. La melatonina disminuye la lipólisis y la cetogénesis hepáticas, mientras que en el músculo estimula la lipólisis de la grasa intramuscular y limita su depósito. Además, se ha observado que la melatonina puede inducir la termogénesis, el cual es un proceso íntimamente relacionado con la lipólisis, y la transformación de grasa blanca a grasa parda en ratones con dietas altas en grasas para reducir la obesidad (Pan et al. 2022).

Una investigación clínica reciente ha demostrado que los niveles de leptina sérica de pacientes chinos con sobrepeso y CCR eran significativamente más altos antes de la colectomía y también más altos que los de pacientes controles sanos. Se observó que la leptina puede interactuar con la metaloponestimulina-1, proteína aumentada en el CCR, para activar la vía de señalización JNK/c-Jun, induciendo así el crecimiento de células tumorales e inhibiendo la apoptosis de células RKO y HCT116 (Pan et al. 2022).

4.8 ESTUDIOS CLÍNICOS

El primer ensayo clínico realizado incluyó a 19 pacientes con tumores sólidos avanzados, entre ellos el CCR, que no respondían a las terapias estándar. La melatonina administrada indujo una mejora de la puntuación del estado funcional y la calidad de vida en el 60 % de los pacientes con un índice de Karnofsky mayor a 20 (Kvietkauskas et al. 2020).

14 pacientes con CCR metastásico que no respondieron al tratamiento con 5-FU fueron tratados con melatonina durante varios meses, observándose una mejora del estado funcional en 5 pacientes, es decir, en el 36% de los pacientes (Kvietkauskas et al. 2020; Pan et al. 2022). Sin embargo, un estudio posterior realizado en 35 pacientes con tumores del aparato digestivo, entre ellos el CCR, observó que la administración combinada de melatonina e IL-2 obtuvo una respuesta general en el 23%, mientras que otro 31% permanecieron estables y en el resto progresó la enfermedad (Kvietkauskas et al. 2020). Otro estudio que evaluó la combinación de melatonina con IL-2 en pacientes con CCR metastásico observó que el tratamiento podría

aumentar la supervivencia y la calidad de vida en comparación con aquellos pacientes que sólo recibieron cuidados paliativos (Chok et al. 2019). El tratamiento neuroinmunoterapéutico preoperatorio con dosis bajas de IL-2 y melatonina es una terapia bien tolerada, capaz de prevenir la linfocitopenia inducida por cirugía en pacientes con CCR (Kvietkauskas et al. 2020).

Un ensayo clínico que incluyó a 1440 pacientes con tumores sólidos avanzados intratables, de los cuales 279 tenían CCR, contempló que en aquellos tratados con melatonina la frecuencia de caquexia, astenia, trombocitopenia y linfopenia fue significativamente menor que en los que recibieron solo atención de apoyo. Además, la estabilización de la enfermedad y la supervivencia a 1 año fue significativamente mayor en los pacientes tratados con melatonina más atención de apoyo. Después se evaluó la influencia de la melatonina en la eficacia y toxicidad de la quimioterapia en un grupo de 200 pacientes metastásicos resistentes a QT, de los cuales 51 padecían CCR, señalando que la tasa de respuesta tumoral objetiva fue significativamente mayor en los pacientes tratados con QT más melatonina que en los tratados con QT sola. Además, la melatonina indujo una disminución significativa en la frecuencia de astenia, trombocitopenia, estomatitis, cardiotoxicidad y neurotoxicidad inducidas por quimioterapia (Kvietkauskas et al. 2020).

El tratamiento concomitante de melatonina con irinotecán en 30 pacientes con CCR metastásico que habían sido tratados previamente con al menos una línea quimioterápica previa que contenía 5-FU, obtuvo un control de enfermedad significativamente mayor que el que se observó en los pacientes tratados sólo con irinotecán, con un 85,7 % y un 43,8 %, respectivamente (Kvietkauskas et al. 2020).

Finalmente, 370 pacientes con cáncer, de los cuales 122 pacientes padecían CCR, fueron tratados con QT sola ó QT combinada con melatonina oral. La tasa general de regresión del tumor fue significativamente mayor y la supervivencia a los 2 años mejoró significativamente en los pacientes que recibieron QT y melatonina (Kvietkauskas et al. 2020; Pan et al. 2022).

5. CONCLUSIONES

1. El cáncer colorrectal es una de las neoplasias más prevalentes a nivel mundial. La vía patogénica más frecuente implicada en su aparición se basa en el acúmulo de mutaciones somáticas dirigidas sobre el epitelio intestinal, tales como las de los genes APC, COX-2, KRAS y el p53, como consecuencia de la actuación mantenida de los factores de riesgo. Por ello, es de suma importancia atender a la prevención de esta patología mediante el abandono tabáquico y alcohólico, la realización de actividad física regular y el consumo de una dieta saludable rica en fibra. También es fundamental incentivar los programas de screening poblacional para su detección y tratamiento precoces. En este último intervienen la cirugía y las terapias farmacológicas y radioterápicas.
2. La melatonina es una molécula que, presente en todos los seres vivos y producida tanto en la glándula pineal como en tejidos extrapineales, cuenta con múltiples capacidades biológicas, entre las que destacan su potente capacidad antioxidante y la regulación del ciclo circadiano sueño-vigilia, de diversas funciones neuroendocrinas, de la reproducción y del sistema inmune. Además, posee numerosas acciones antitumorales que sugieren el uso de esta molécula en el tratamiento del CCR como terapia de apoyo.
3. La melatonina favorece la apoptosis y la autofagia, e inhibe la proliferación de células tumorales tanto *in vivo* como en diferentes líneas celulares de CCR. Esto lo consigue mediante la modulación de los procesos de reparación del ADN, la acción prooxidante selectiva sobre células tumorales, la activación de genes apoptóticos, la supresión de la expresión de genes antiapoptóticos, de vías de señalización celular y de proteínas y moléculas implicadas en estos procesos, como PrPc, PINK-1, Ca^{2+} intracelular, CAMKIIa, CaM, ET-1, NF-kB, β -catenina, NO, micro-ARN específicos, etc. A su vez, dificulta la metástasis al detener la migración celular y la angiogénesis bloqueando la expresión de genes y moléculas relacionadas con ellas, como HIF-1 α , VEGF, EGF, iNOS, COX-2, ET-1, NF-kB, MLCK, etc. En cuanto a sus efectos antioxidantes, la melatonina protege a las células sanas frente a los RL generados por el tumor y por las terapias contra el CCR, tanto de manera directa como mediante la activación de sistemas enzimáticos intracelulares antioxidantes. También es capaz de modular el sistema inmune para prevenir la progresión del CCR a través del aumento de LT, LB, células NK y sus respectivas respuestas; y a través del bloqueo de mediadores inflamatorios como el NF-kB, TNF- α , IL-1 β , IL-6. En cuanto a la relación del CCR con el sueño, las alteraciones en

la secreción de melatonina y en la expresión de genes reloj resultantes de la privación o de trastornos del sueño pueden permitir el desarrollo de CCR. En relación con la fisiología del tracto GI, la melatonina puede prevenir la aparición del CCR mediante la regulación de la motilidad, secreción, inmunidad, microbiota y metabolismo lipídico intestinales.

4. Los estudios realizados revelan que la melatonina en combinación con la quimioterapia y radioterapia aumenta la sensibilidad, disminuye la resistencia, y reduce los efectos perjudiciales derivados de estos tratamientos, tanto *in vitro* como *in vivo*. Estos efectos podrían fortalecer la condición física de los pacientes y finalmente mejorar su supervivencia.
5. Los ensayos clínicos realizados hasta la fecha muestran una mejora en el estado funcional de los pacientes y en la respuesta tumoral, pero son poco numerosos y se centran sobre todo en pacientes con CCR avanzado o metastásico, de manera que son necesarios nuevos ensayos clínicos para dilucidar si este agente terapéutico prometedor puede estandarizarse en el tratamiento del cáncer colorrectal. Así, las múltiples capacidades fisiológicas y oncostáticas de esta indolamina pueden ser la clave para obstaculizar el progreso del carcinoma colorrectal, potenciando la eficacia de los tratamientos convencionales y/o reduciendo sus efectos perjudiciales, pero aún se requieren nuevas investigaciones para esclarecer si la melatonina es relevante en este sentido.

6. BIBLIOGRAFÍA

Alexander M, Burch J, Steck S, Chen C, Hurley T, Cavicchia P, ... Hébert JR (2015). Case-control study of the PERIOD3 clock gene length polymorphism and colorectal adenoma formation. *Oncology Reports*. 33(2): 935–941.

Argueta J, Solís H, Estrada R, Constantino LA, Oikawa J, Velázquez J, Benítez-King G (2022). Further Evidence of the Melatonin Calmodulin Interaction: Effect on CaMKII Activity. *International Journal of Molecular Sciences*. 23(5):2479-2492.

Asghari MH, Ghobadi E, Moloudizargari M, Fallah M, Abdollahi M (2018). Does the use of melatonin overcome drug resistance in cancer chemotherapy? *Life Sciences*. 196: 143–55.

Benítez-King G (2006). Melatonin as a cytoskeletal modulator: implications for cell physiology and disease. *Journal of Pineal Research*. 40(1): 1–9.

Casado J, Iñigo A, Jiménez S, Ríos S, Carazo Á, González C, ... León J (2017). AA-NAT, MT1 and MT2 correlates with cancer stem-like cell markers in colorectal cancer: study of the influence of stage and p53 status of tumors. *International Journal of Molecular Sciences*. 18(6): 1251.

das Chagas F, de Jesus M, Teixeira VW, Teixeira AAC (2015). Effects of melatonin and prolactin in reproduction: review of literature. *Revista da Associacao Medica Brasileira*. 61(3): 269–74.

Chok KC, Ng CH, Koh RY, Ng KY, Chye SM (2019). The potential therapeutic actions of melatonin in colorectal cancer. *Hormone molecular biology and clinical investigation*. 39(1): 20190001.

Cipolla-Neto J, Gaspar Do Amaral F (2018 a). A brief review about melatonin, a pineal hormone. *Archives of Endocrinology and Metabolism*. 62(4): 472–479.

Cipolla-Neto J, Gaspar Do Amaral F (2018 b). Melatonin as a Hormone: New Physiological and Clinical Insights. *Endocrine Reviews*. 39(6): 990–1028.

Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, Kasi PM, Wallace MB (2019). Colorectal cancer. *The Lancet*. 394(10207): 1467–1480.

Farhood B, Goradel NH, Mortezaee K, Khanlarkhani N, Salehi E, Nashtaei MS, ... Najafi M (2018). Melatonin as an adjuvant in radiotherapy for radioprotection and radiosensitization. *Clinical and Translational Oncology*. 21(3): 268–279.

Fic M, Gomulkiewicz A, Grzegorzolka J, Podhorska M, Zabel M, Dziegiel P, Jablonska K (2017). The impact of melatonin on colon cancer cells' resistance to doxorubicin in an in vitro study. *International Journal of Molecular Sciences*. 18 (7): 1396-1412.

Gao Y, Xiao X, Zhang C, Yu W, Guo W, Zhang Z, ... Deng W (2017). Melatonin synergizes the chemotherapeutic effect of 5-fluorouracil in colon cancer by suppressing PI3K/AKT and NF- κ B/iNOS signaling pathways. *Journal of Pineal Research*. 62(2): e12380.

Hong Y, Won J, Lee Y, Lee S, Park K, Chang KT, Hong Y (2014). Melatonin treatment induces interplay of apoptosis, autophagy, and senescence in human colorectal cancer cells. *Journal of Pineal Research*. 56(3): 264–274.

Ji G, Zhou W, Li X, Du J, Li X, Hao H (2021). Melatonin inhibits proliferation and viability and promotes apoptosis in colorectal cancer cells via upregulation of the microRNA-34a/449a cluster. *Molecular Medicine Reports*. 23(3): 187- 200.

Kvietkauskas M, Zitkute V, Leber B, Strupas K, Stiegler P, Schemmer P (2020). The role of melatonin in colorectal cancer treatment: a comprehensive review. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*. 12: 1758835920931714.

Lee JH, Yun CW, Han YS, Kim SM, Jeong D, Kwon HY, ... Lee SH (2018 a). Melatonin and 5-fluorouracil co-suppress colon cancer stem cells by regulating cellular prion protein-Oct4 axis. *Journal of Pineal Research*. 65(4): e12519.

Lee JH, Yoon YM, Han YS, Yun CW, Lee SH (2018 b). Melatonin promotes apoptosis of oxaliplatin-resistant colorectal cancer cells through inhibition of cellular prion protein. *Anticancer Research*. 38(4): 1993–2000.

Liu Z, Zou D, Yang X, Xue X, Zuo L, Zhou Q, ... Wang Y (2017). Melatonin inhibits colon cancer RKO cell migration by downregulating Rho-associated protein kinase expression via the p38/MAPK signaling pathway. *Molecular Medicine Reports*. 16(6): 9383–9392.

Maroufi NF, Vahedian V, Hemati S, Rashidi MR, Akbarzadeh M, Zahedi M, ... Nouri M (2020). Targeting cancer stem cells by melatonin: Effective therapy for cancer treatment. *Pathology, Research and Practice*. 216(5): 152919.

Mazzocchi G, Colangelo T, Panza A, Rubino R, De Cata A, Tiberio C, ... Piepoli A (2016). Deregulated expression of cryptochrome genes in human colorectal cancer. *Molecular Cancer*. 15:6.

Mirza-Aghazadeh-Attari M, Mohammadzadeh A, Mostavafi S, Mihanfar A, Ghazizadeh S, Sadighparvar S, ... Yousefi B (2020). Melatonin: An important anticancer agent in colorectal cancer. *Journal of Cellular Physiology*. 235(2): 804–817.

Nguyen LH, Goel A, Chung DC (2020). Pathways of Colorectal Carcinogenesis. *Gastroenterology*. 158(2): 291–302.

Pan S, Guo Y, Hong F, Xu P, Zhai Y (2022). Therapeutic potential of melatonin in colorectal cancer: Focus on lipid metabolism and gut microbiota. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 1868(1): 166281.

Pariente R, Bejarano I, Rodriguez AB, Pariente JA, Espino J (2018). Melatonin increases the effect of 5-fluorouracil-based chemotherapy in human colorectal adenocarcinoma cells in vitro. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 440(1-2): 43–51.

Pourhanifeh MH, Mehrzadi S, Kamali M, Hosseinzadeh A (2020). Melatonin and gastrointestinal cancers: Current evidence based on underlying signaling pathways. *European Journal of Pharmacology*. 886: 173471.

Sharda N, Ikuse T, Hill E, Garcia S, Czinn SJ, Bafford A, ... Banerjee A (2021). Impact of Andrographolide and Melatonin Combinatorial Drug Therapy on Metastatic Colon Cancer Cells and Organoids. *Clinical Medicine Insights: Oncology*. 15: 11795549211012672.

Sociedad Española de Oncología Médica (2022). Las cifras del cáncer en España. SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica. Sociedad Española de Oncología Médica editorial.

Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 71(3): 209-249.

de Teresa F, Castillo M, Rodríguez M, Ríos R, Guerrero A, Mínguez J, ... Valle A (2021). Manual CTO de Digestivo y Cirugía digestiva. CTO editorial.

Thanikachalam K, Khan G (2019). Colorectal Cancer and Nutrition. *Nutrients*. 11(1): 164-175.

Tordjman S, Chokron S, Delorme R, Charrier A, Bellissant E, Jaafari N, ... Fougere C (2017). Melatonin: Pharmacology, Functions and Therapeutic Benefits. *Current Neuropharmacology*. 15(3): 434–443.

Wang Q, Sun Z, Du L, Xu C, Wang Y, Yang B, ... Liu Y (2018). Melatonin Sensitizes Human Colorectal Cancer Cells to γ -ray Ionizing Radiation In Vitro and In Vivo. *International Journal of Molecular Sciences*. 19(12): 3974-3988.

Wu H, Liu J, Yin Y, Zhang D, Xia P, Zhu G (2019). Therapeutic Opportunities in Colorectal Cancer: Focus on Melatonin Antioncogenic Action. *BioMed Research International*. 2019: 9740568.

Yun CW, Kim S, Lee JH, Lee SH (2018). Melatonin promotes apoptosis of colorectal cancer cells via superoxide-mediated ER stress by inhibiting cellular prion protein expression. *Anticancer Research*. 38(7): 3951–3960.