

Titolo: Effetti antitumorali della melatonina: revisione - Melatonin Anticancer Effects: Review

Codice: MLT002

Autore Di Bella et al.

Data: 2013

Rivista: International Journal of Molecular Science 14, 2410-2430

Argomento: melatonina

Accesso libero: si

DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms14022410>

URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/14/2/2410/htm>

BLOG: <https://www.metododibellaevidenzescientifiche.com/2021/04/11/mlt002-di-bella-et-al-2013/>

Parole chiave: melatonina; apoptosi; angiogenesi; Sistema APUD; Metodo Di Bella

Tumore: n/a

Traduzione: totale e senza modificazioni

**Punti di interesse:** Le funzioni della MLT coinvolgono numerosi processi fisiologici, tra cui la regolazione del ritmo circadiano, i cambiamenti stagionali, il sonno, la riproduzione e la funzione cardiovascolare, modula le funzioni del sistema immunitario ed emopoietico, ha marcato effetto antiossidante dose-dipendente, agendo come uno spazzino di radicali liberi. La MLT ha la capacità di regolare negativamente sia la trascrizione del gene recettore degli estrogeni (ER) [10-12] che il potenziale oncogenico dell'asse dell'ormone della crescita (GH), prolattina e il fattore di crescita insulino simile 1 (IGF- 1). Tutte queste funzioni hanno una rilevanza antitumorale. L'azione antitumorale della MLT si esercita tramite meccanismi diretti e indiretti.

**Meccanismi diretti:** aumento l'apoptosi, attraverso l'attivazione delle caspasi (enzimi responsabili dell'esecuzione della morte cellulare), azione antiproliferativa attraverso l'inibizione / blocco del ciclo cellulare, inibisce la diffusione metastatica, influisce sui processi di differenziazione cellulare agendo direttamente su attivazione e disattivazione di geni, ha un'azione antiangiogenica inducendo ipossia nelle cellule tumorali e agendo sul fattore di crescita endoteliale vascolare.

**Meccanismi indiretti:** è una molecola redox, agendo come spazzino dei radicali liberi (antiossidante), protegge la funzione del midollo osseo con effetti importanti sulla composizione del sangue, regola il sistema immunitario stimolando la produzione di cellule natural killer, monociti e leucociti, ma anche aumentando la produzione di interleuchina 2 interferone-gamma.

**Meccanismi di azione della MLT attraverso i recettori:** per la MLT sono stati individuati due specifici recettori: MT1 e MT2. I recettori per MLT sono stati localizzati in tutti i distretti e tipi di cellule, comprese le cellule del sistema emopoietico come linfociti, megacariociti, piastrine, cellule intestinali e prostatiche, tubuli renali e miociti cardiaci, oltre che nel tessuto del sistema nervoso centrale. Dato il suo basso peso molecolare, la MLT si diffonde facilmente sia nel liquido extracellulare che nelle cellule stesse, in cui sono stati identificati i recettori nucleari. Da un punto di vista chimico, alcuni di questi recettori nucleari presentano somiglianze strutturali con i recettori dei retinoidi e il recettore della vitamina D. Questi recettori nucleari della melatonina sono particolarmente diffusi nel sistema nervoso centrale; si può ipotizzare una presenza più o meno ubiquitaria dei recettori della melatonina, a ulteriore conferma del ruolo primario della MLT nelle

funzioni vitali. È ormai accettato che la MLT influenzi l'attività cellulare agendo principalmente sugli esteri fosforici dell'adenosina (AMP, ATP, ADP) e su altri sistemi di trasduzione del segnale.

Altri meccanismi di azione: La melatonina può anche esercitare a diversi livelli fisiologici le sue proprietà antitumorali attraverso un insieme di meccanismi d'azione complessi, che non necessariamente coinvolgono la via recettoriale. Queste azioni consistono nell'attivazione dell'apoptosi, nell'inibizione della proliferazione e nella differenziazione cellulare.

Proprietà redox: Lo stato redox intracellulare è fortemente correlato alle azioni antiproliferative e citotossiche della MLT nelle cellule tumorali. Il destino delle cellule tumorali dipenderà dalla capacità della MLT di indurre un ambiente antiossidante - correlato all'effetto antiproliferativo o un ambiente proossidante correlato all'effetto citotossico (apoptosi). In primo luogo, l'inibizione della proliferazione è correlata con una diminuzione delle specie reattive dell'ossigeno intracellulare (ROS) e un aumento degli enzimi antiossidanti, mentre l'induzione della morte cellulare programmata è il risultato dello squilibrio tra la produzione di specie ROS (aumentata) e le difese antiossidanti (inibite). Inoltre, gli stessi meccanismi possono essere riprodotti da altre ben note molecole antiossidanti (retinoidi, alfa-tocoferil acetato e acido ascorbico).

#### MLT e Sistema APUD

La melatonina fa parte delle molecole prodotte dal sistema APUD. Il sistema APUD è un sistema composto da cellule sparse in numerosi organi e tessuti, che contengono granuli di secrezione e producono sostanze ormonali con azione *paracrina* o *endocrina*. Si parla anche di sistema endocrino diffuso, presente nel tratto gastro-enteropancreatico (GEP), nel sistema nervoso centrale e periferico, nell'apparato urogenitale e in numerosi altri organi e tessuti, quali cute, miocardio, timo, polmone e mammella. L'analisi delle caratteristiche fisiologiche di molte sostanze biologicamente attive prodotte dal Sistema Neuro-Endocrino Diffuso (DNES), come melatonina, serotonina, gastrina, insulina, glucagone, somatostatina, ecc., conferma l'importante ruolo degli ormoni di queste cellule negli stadi di insorgenza e proliferazione del tumore.

Esiste una correlazione significativa tra il tipo istologico del tumore e le proprietà biologiche delle molecole che produce. MLT, serotonina e somatostatina, tutte dotate di attività antiproliferativa sono più frequenti nei tumori più differenziati come adenocarcinomi e carcinomi a cellule squamose con cheratinizzazione. Catecolamine, istamina, insulina, gastrina e TSH, sostanze che inducono attività proliferativa, sono solitamente più frequenti nei tumori che hanno un indice proliferativo più alto, quelli che sono più aggressivi e meno differenziati, come i tumori solidi e i carcinomi a cellule squamose senza cheratinizzazione. Questi dati suggeriscono che la produzione in situ di MLT e dei relativi peptidi APUD nei tumori non endocrini gioca un ruolo determinante nei meccanismi autocrini tumorali, promuovendo, rallentando, inibendo o prevenendo la progressione e la metastasi. La secrezione ormonale nei tumori originati da aggregati cellulari non endocrini non è un segno autonomo, ma un elemento geneticamente indotto, causato dalla genesi e differenziazione cellulare. Questo processo è direttamente associato al potenziale di crescita, divisione e differenziazione cellulare.

Piastrine e Sistema APUD: Le piastrine possono essere considerate elementi onnipresenti, multifattoriali e itineranti di un sistema APUD quindi endocrino diffuso, plastico e ubiquitario, con il suo contenuto di serotonina (5-HT) e norepinefrina, acetilcolina ed epinefrina, MLT, enzimi responsabile della sintesi della MLT, sottoprodotti metabolici e deposito di esteri fosforici adenosina (AMP, ADP, ATP). Le piastrine possono assorbire e immagazzinare serotonina; possono anche sintetizzare MLT. Questa funzione delle piastrine, che rilasciano i loro depositi di serotonina ed

espellono materiale dai loro granuli quando attivate da stimoli appropriati, è stata considerata molto simile al rilascio di neurotrasmettitori da parte dei neuroni centrali.

MLT e microtubuli. La MLT svolge attività antitumorale agendo anche sulle giunzioni gap intercellulari che mediano la comunicazione tra cellule adiacenti e sono strettamente connesse ai meccanismi che condizionano la crescita cellulare. La MLT potrebbe anche intervenire sul processo di polimerizzazione della tubulina alla base della formazione dei microtubuli. I microtubuli I microtubuli hanno diverse funzioni sono responsabili della forma di molte cellule, partecipano alla formazione del fuso durante la divisione cellulare (mitosi), sono coinvolti anche nel movimento degli organelli (ad esempio i mitocondri), così come il movimento delle vescicole. Interferendo con la polimerizzazione delle tubulina, la MLT può interferire con molteplici funzioni cellulari.

Per alle suddette proprietà antitumorali, la MLT contrasta gli effetti collaterali causati dalla chemioterapia e radioterapia.

Altre prospettive di azione della MLT

Luigi Di Bella riteneva che l'attività antiblastica della MLT non fosse limitata ai sopra elencati meccanismi d'azione. È stato anche dimostrato che la MLT può raggiungere il nucleo del megacariocita e svolgere un'azione simile alla citocalasina B, sia nell'inibire il processo di endoduplicazione che nell'aumentare la poliploidia nucleare. Secondo Luigi D Bella, nella biologia neoplastica l'azione delle chaperonine (proteine che attivano il ripiegamento di strutture proteiche altrimenti inerti) dovrebbe avvenire prevalentemente attraverso l'idrolisi di ATP, ADP e AMP legati con adenosina o MLT. La MLT potrebbe quindi avere anche in questo modo un ruolo nell'attivazione delle funzioni di alcune proteine andando ad influire sulla loro struttura molecolare.

### **Riassunto/Abstract**

**La melatonina (N-acetil-5-metossitriptamina, MLT), il principale ormone prodotto dalla ghiandola pineale, non solo regola il ritmo circadiano, ma ha anche proprietà antiossidanti, antietà e immunomodulanti. La MLT svolge un ruolo importante nella composizione del sangue, nella dinamica midollare, nella genesi delle piastrine, nell'endotelio dei vasi e nell'aggregazione piastrinica, nella regolazione della formula dei leucociti e nella sintesi dell'emoglobina. Sono state inoltre documentate le sue significative proprietà atossiche, apoptotiche, oncostatiche, angiogenetiche, differenzianti e antiproliferative contro tutti i tumori solidi e liquidi. Grazie, infatti, alla sua notevole versatilità funzionale, MLT può esercitare effetti antitumorali sia diretti che indiretti in sinergia fattoriale con altre molecole differenzianti, antiproliferative, immunomodulanti e trofiche che fanno parte del trattamento antitumorale formulato da Luigi Di Bella (Metodo Di Bella, MDB: somatostatina, retinoidi, acido ascorbico, vitamina D3, inibitori della prolattina, condroitin solfato). L'interazione tra MLT e le molecole MDB contrasta i molteplici processi che caratterizzano il fenotipo neoplastico (induzione, promozione, progressione e / o disseminazione, mutazione tumorale). Tutte queste particolari caratteristiche suggeriscono l'uso della MLT nelle malattie oncologiche.**

1. Introduzione: considerazioni generali sull'effetto antitumorale della melatonina

Le funzioni della MLT coinvolgono numerosi processi fisiologici, tra cui la regolazione del ritmo circadiano, i cambiamenti stagionali, il sonno, la riproduzione e la funzione cardiovascolare [1]. La MLT modula anche le funzioni del sistema immunitario ed emopoietico [2].

È ormai accettato che MLT abbia un marcato effetto antiossidante dose-dipendente, fornendo protezione contro i danni da sostanze cancerogene, agendo come un scavenger (spazzino) di radicali

liberi [3]. Questa azione può essere riprodotta sperimentalmente, con importanti implicazioni nella prevenzione e nel trattamento dei tumori. Numerosi studi hanno cercato di definire gli effetti in vitro della MLT sulla proliferazione di linee cellulari tumorali e sulla loro apoptosi. Non c'è un accordo comune sul perché l'azione di MLT varia in base al tipo istologico, alla differenziazione cellulare, alla sensibilità alle molecole oncogene e alle condizioni del terreno di coltura [4–8]. La variabilità dell'efficacia antitumorale in vitro della MLT dipende dai limiti e dal condizionamento del terreno di coltura cellulare, dove non troviamo, ovviamente, il "contesto biologico" e le interazioni complesse e sfaccettate con cui la MLT esercita le sue proprietà antitumorali in vivo [6]. Inoltre, anche le dinamiche di divisione delle cellule normali e delle cellule tumorali dipendono e sono coordinate da una successione di marcatori temporali circadiani correlati alla MLT [9].

Infine, la documentata capacità di MLT di regolare negativamente sia la trascrizione del gene recettore degli estrogeni (ER) [10-12] che il potenziale oncogenico dell'asse dell'ormone della crescita (GH) con prolattina e il fattore di crescita insulino simile 1 (IGF- 1) e dei fattori di crescita dipendenti dal GH, come il fattore di crescita epidermico (EGF), il fattore di crescita dell'endotelio vascolare (VEGF), il fattore di crescita dei fibroblasti (FGF), il fattore di crescita derivato dalle piastrine (PDGF), il fattore di crescita trasformante (TGF) e il fattore di crescita degli epatociti (HGF), sono aspetti che hanno certamente una rilevanza antitumorale [13-21].

## 2. I principali meccanismi antitumorali diretti della melatonina

### 2.1. Pro-apoptotico

L'azione antitumorale diretta viene esercitata inibendo la proliferazione e la crescita delle cellule tumorali, ostacolando così la tendenza delle cellule sane a diventare neoplastiche, e inducendo il turnover cellulare e la sostituzione di cellule tumorali con cellule sane attraverso l'apoptosi. La via di attivazione intrinseca, mitocondriale, delle caspasi (cisteina-apartasi) rappresenta il "punto di non ritorno" verso la morte cellulare programmata indotta dalla MLT [22-24]. Numerosi studi hanno documentato le proprietà antitumorali della MLT nei tumori solidi e nella leucemia, con particolare efficacia nei tumori linfoproliferativi [25-28].

L'uso di MLT insieme all'acido retinoico, su cellule di cancro al seno ormone-dipendenti MCF-7, ha mostrato un arresto completo della crescita cellulare e una riduzione del numero di cellule attraverso l'attivazione dell'apoptosi [29-32].

### 2.2. Antiproliferativo

Vari studi hanno dimostrato che la MLT ha spiccate proprietà oncostatiche in grado di ridurre la promozione o la progressione del tumore. Vari autori hanno dimostrato che le proprietà antiproliferative della MLT avvengono attraverso l'inibizione / blocco del ciclo cellulare [33-38]. Ciò è confermato da studi clinici in cui, secondo Luigi Di Bella, la sola MLT non può guarire un tumore ma senza la MLT è difficile guarire qualsiasi tumore. La MLT rappresenta quindi una componente assolutamente necessaria nel trattamento antitumorale, sebbene non sia sufficiente da sola [39-42].

Altri studi hanno dimostrato l'effetto inibitorio diretto e selettivo della melatonina sul processo di crescita delle cellule linfoblastoidi [26-28]; El Missiry et al. ha studiato l'effetto della MLT sulle cellule di carcinoma ascitico di Ehrlich (EAC), osservando che non solo riduceva la loro vitalità e volume, aumentando la sopravvivenza degli animali da esperimento, ma induceva anche l'apoptosi delle cellule tumorali EAC [43].

Un dato clinico significativo è emerso da uno studio su 250 pazienti con varie forme di tumori avanzati e metastatizzati, nei quali il tasso di sopravvivenza a un anno e il tasso di regressione oggettiva del tumore erano molto più alti nei pazienti trattati anche con MLT rispetto a quelli che

ricevevano solo chemioterapia. La somministrazione di MLT ha anche ridotto significativamente la trombocitopenia, la neurotossicità, la cardiotoxicità, la stomatite e l'astenia [44].

Mediavilla, Sancez-Barcelo et al. hanno osservato un interessante meccanismo d'azione oncostatico della MLT, attraverso l'attivazione e l'aumento dei geni soppressori p21 / WAF1 e p53 che agiscono arrestando il ciclo di riproduzione delle cellule tumorali [45]. Le cellule di cancro al seno umano (MCF-7) sono state studiate in vitro e si è riscontrato che, a concentrazioni fisiologiche, la MLT riduceva il numero e la vitalità delle cellule tumorali dopo 48 ore. Un anno prima era stato pubblicato uno studio sull'effetto della MLT, insieme alla somatostatina, sul cancro del colon murino (colon-38), che mostrava non solo l'effetto antiproliferativo ma anche un'evidente azione proapoptotica [46].

### 2.3. Effetti differenzianti

Al Settimo Colloquio della European Pineal Society a Sitges nel 1966, furono presentati diversi articoli sull'effetto oncostatico della MLT e sulle sue proprietà di inibire la diffusione metastatica delle cellule tumorali. È stato dimostrato che alcuni oncogeni, incluso il sarcoma del ratto (RAS; Hras, Kras, NRas), sono significativamente inibiti dalla MLT [47]. I meccanismi biochimici e molecolari dell'azione oncostatica della MLT comprendono anche l'architettura del citoscheletro e la funzione intracellulare redox. Un importante meccanismo di mediazione della melatonina sull'azione inibitoria della crescita circadiano-dipendente del tumore è la soppressione del recettore del fattore di crescita epidermico (EGFR) e dell'attività della protein chinasi attivata dal mitogeno (MAPK) [9,48 , 49]. Ciò avviene attraverso l'ossidazione dell'acido linoleico e la sua conversione in acido 13-idrossidecadienoico (13-Hode) che può attivare sia EGFR che MAPK [50,51].

### 2.4. Anti-angiogenetico

Altri potenziali meccanismi riguardano la capacità della melatonina di ridurre l'angiogenesi tumorale, inibendo l'espressione della proteina HIF-1alfa, inducendo ipossia nelle cellule tumorali e agendo sul fattore di crescita endoteliale vascolare (VEGF) [52-56].

## 3. I principali meccanismi antitumorali indiretti della melatonina

### 3.1. Azione Free Radical Scavenger (spazzino dei radicali liberi)

Questo effetto contrasta la cancerogenesi per mezzo di effetti anti-radicali liberi e antiossidanti [57–60]. Ciò limita la tossicità della chemioterapia, rafforzando contemporaneamente la risposta clinica [61,62]. La chemioterapia provoca un'evidente diminuzione dei livelli sierici di melatonina [63].

### 3.2. Azione mieloprotettiva / mielostimolante

La mielosoppressione rappresenta un problema considerevole nei protocolli chemioterapici. La MLT protegge il midollo osseo ed i relativi tessuti linfoidei dagli effetti tossici della chemioterapia, e svolge un'azione mieloprotettiva con effetti determinanti sulla composizione del sangue, sulla dinamica midollare e sull'eritro-leuco-trombocitopoiesi [61,62].

Un dato essenziale scoperto 30 anni fa da Di Bella è la stretta interazione funzionale tra MLT e piastrine. Questa associazione è indispensabile per comprendere una serie di fenomeni essenziali non solo per la fisiologia del sangue, ma di tutti i tessuti, in particolare del sistema nervoso, sia centrale che periferico. Il supporto funzionale della MLT è la piastrina che la trasporta nelle strutture del suo citoplasma, i “corpi densi”, dove per mezzo di un meccanismo omeostatico viene mobilizzata sulla base della concentrazione plasmatica [64-68].

La coniugazione con l'adenosina, attraverso il legame idrogeno, secondo la formulazione Luigi Di Bella (Figura 1), rende MLT perfettamente idrosolubile e assorbibile dalle membrane cellulari. Le piastrine aderiscono alla parete dei megacariociti e possono rilasciare la melatonina già legata

all'adenosina. La melatonina può legarsi ad ATP, ADP, AMP, acido polinucleico e ribonucleico ed è a questo livello che esercita la sua azione antiblastica [69-71].

### 3.3. L'azione della melatonina nella regolazione del sistema immunitario

La MLT è coinvolta nella regolazione cellulare e umorale del corpo, agendo come una molecola endocrina, autocrina e / o paracrina [72]. Questa attività è sostenuta dalla sua espressione recettoriale nucleare e di membrana, con una caratteristica intrinseca delle popolazioni linfocitarie umane. L'esistenza di recettori specifici per la MLT nelle cellule linfoidi conferma questo effetto indiretto nel regolare e rafforzare la risposta immunitaria [73-75].

Questi siti di legame alle proteine sono stati descritti non solo nei linfociti umani ma anche nei granulociti e nei serbatoi linfoidi biologici (timo, milza, borsa di Fabricius, ecc.). È stato così documentato il ruolo fisiologico fondamentale della MLT nel sistema immunitario umano. La regolazione umorale avviene attraverso la produzione di citochine in cellule immunocompetenti. MLT non solo stimola la produzione di cellule natural killer, monociti e leucociti, ma aumenta anche la produzione di Interleuchina 2-6-10-12 (IL-2-6-10-12) e Interferone-gamma (IFN- $\gamma$ ) le cellule mononucleate, promuovendo una risposta dei linfociti T helper 1 (Th-1) [25,76-79].

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

### 4.1. Il sistema recettore

Sebbene la molecola sia altamente diffusibile ed eserciti effetti sistemici mediante almeno due processi intracellulari come la modulazione delle funzioni mitotiche e citoscheletriche attraverso il legame con la calmodulina [80,81] e lo scavenger di radicali liberi [82], due specifici recettori sono stati identificati: MT1 e MT2 [83,84]. Inizialmente caratterizzato a livello del sistema nervoso centrale, i recettori per MLT sono stati localizzati in tutti i distretti e tipi di cellule, comprese le cellule del sistema emopoietico come linfociti, megacariociti, piastrine, cellule intestinali e prostatiche, tubuli renali e miociti cardiaci [85-87]. Per le sue caratteristiche chimiche e il basso peso molecolare (232, 278 kDa), la MLT si diffonde facilmente sia nel liquido extracellulare che nelle cellule stesse, in cui sono stati identificati i recettori nucleari orfani [88]. Da un punto di vista chimico, alcuni di questi recettori nucleari presentano somiglianze strutturali con i recettori dei retinoidi (ROR e RZR) [89,90] e il recettore della vitamina D (VDR) [91,92].

Questi recettori nucleari della melatonina sono particolarmente diffusi nel sistema nervoso centrale, le concentrazioni principali sono nel corpo pineale, talamo, ipotalamo, nucleo soprachiasmatico, corteccia cerebrale, collicolo superiore della lamina quadrigemina, habenulas, pars tuberalis, adenoipofisi e cervelletto [93- 97]; si può ipotizzare una presenza più o meno ubiquitaria dei recettori della melatonina, a ulteriore conferma del ruolo primario della MLT nelle funzioni vitali. Le proprietà chimico-metaboliche legate a questi recettori possono aiutare a comprendere alcuni dei meccanismi d'azione antitumorali della MLT.

Avendo anche previsto queste recenti scoperte, Di Bella ha suggerito che il principale effetto antitumorale della MLT consisteva nella disponibilità ubiquitaria degli esteri fosforici dell'adenosina, AMP, ADP e ATP [69,98,99].

È ormai accettato che la MLT influenzi l'attività cellulare agendo principalmente sugli esteri fosforici dell'adenosina e su altri sistemi di trasduzione del segnale, come l'inibizione dell'adenil ciclasi mediata dalla proteina C, l'inibizione della mobilizzazione del Ca<sup>2+</sup>, l'inibizione del rilascio di acido arachidonico, l'azione sulle proteine chinasi C e apertura dei canali del potassio [100-107] (Figura 2).

### 4.2. Altri meccanismi



La melatonina può anche esercitare a diversi livelli fisiologici le sue proprietà antitumorali attraverso un insieme di meccanismi d'azione complessi, che non necessariamente coinvolgono la via recettoriale. Queste azioni consistono nell'attivazione dell'apoptosi, nell'inibizione della proliferazione e nella differenziazione cellulare (Figura 2). Infatti, lo stato redox intracellulare è fortemente correlato alle azioni antiproliferative e citotossiche della MLT nelle cellule tumorali. Pertanto, il destino delle cellule tumorali dipenderà dalla capacità di questa indolamina di indurre un ambiente antiossidante - correlato all'effetto antiproliferativo o un ambiente proossidante correlato all'effetto citotossico (apoptosi). In primo luogo, l'inibizione della proliferazione è correlata con una diminuzione delle specie reattive dell'ossigeno intracellulare (ROS) e un aumento degli enzimi antiossidanti subcellulari (livelli di CAT, SOD e GRS), mentre l'induzione della morte cellulare programmata è il risultato dello squilibrio tra la produzione di specie ROS (aumentata) e le difese antiossidanti (inibite) [35]. L'attivazione di enzimi è anche un punto cruciale per la differenziazione cellulare in diverse linee di cellule tumorali [35,108]. Inoltre, gli stessi meccanismi possono essere riprodotti da altre ben note molecole antiossidanti (retinoidi, alfa-tocoferil acetato e acido ascorbico) [59].

#### 4.3. Il sistema di assorbimento e decarbossilazione dei precursori delle ammine (APUD - Amine Precursor Uptake and Decarboxylation System)

Kvetnoi et al. [109] ha confermato il ruolo attivo della MLT e delle molecole prodotte dal sistema di assorbimento e decarbossilazione dei precursori delle ammine (APUD), sia sull'eziopatogenesi e proliferazione tumorale che nella terapia antitumorale. L'analisi delle caratteristiche fisiologiche di molte sostanze biologicamente attive prodotte dal Sistema Neuro-Endocrino Diffuso (DNES) [110], come melatonina, serotonina, gastrina, insulina, glucagone, somatostatina, ecc., conferma l'importante ruolo degli ormoni di queste cellule negli stadi di insorgenza e proliferazione del tumore, mentre è significativa la diminuzione del numero di queste cellule negli stadi terminali del tumore [111].

La secrezione ormonale nei tumori non endocrini ha un grande significato teorico e pratico, confermato da molti autori, come Maluf, Koerner e Bonkhoff [112,113].

La presenza di cellule endocrine nelle metastasi tumorali conferma la natura maligna di queste cellule. Gli autori hanno anche documentato una correlazione significativa tra il tipo istologico del tumore e le proprietà biologiche delle molecole che produce, cioè MLT, serotonina e somatostatina, tutte dotate di attività antiproliferativa [114]. Queste sostanze erano più frequenti nei tumori più differenziati come adenocarcinomi e carcinomi a cellule squamose con cheratinizzazione, mentre catecolamine, istamina, insulina, gastrina e TSH, sostanze che inducono attività proliferativa, erano solitamente più frequenti nei tumori che hanno un indice proliferativo più alto, quelli che sono più aggressivi e meno differenziati, come i tumori solidi e i carcinomi a cellule squamose senza cheratinizzazione. Questi dati suggeriscono che la produzione in situ di MLT e dei relativi peptidi APUD nei tumori non endocrini gioca un ruolo determinante nei meccanismi autocrini dell'omeostasi tumorale, promuovendo, rallentando, inibendo o prevenendo la progressione e la metastasi.

Un'ulteriore conferma viene da studi relativi al significativo aumento di cellule immunopositive per MLT nel carcinoma mammario umano non metastatico [115]. La conferma è fornita anche da studi sull'effetto oncostatico della MLT sulla ghiandola mammaria in topi transgenici con proto-oncogene N-ras, che hanno dimostrato che la MLT riduce l'incidenza dei noduli alveolari iperplastici e la presenza della proteina N-ras nell'iperplastica focale lesioni [47].

Maestroni e Conti hanno riscontrato che le concentrazioni di MLT nelle cellule di cancro al seno triplicano quelle del tasso sierico di soggetti sani [116].

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

#### 4.4. Piastrine e sistema APUD

Le piastrine possono essere considerate elementi onnipresenti, multifattoriali e itineranti di un sistema APUD plastico e ubiquitario, con il suo contenuto di serotonina (5-TH) e norepinefrina, acetilcolina ed epinefrina, MLT, NAT e HIOMT (enzimi responsabile della sintesi della MLT), sottoprodotti metabolici e deposito di adenosina (AMP, ADP, ATP). Le piastrine a volte agiscono come un neurone melatonergico e dopaminergico, serotoninergico e adrenergico, a seconda delle condizioni locali e della natura lavorativa dei nuclei. Le piastrine possono assorbire e immagazzinare 5-TH; possono anche sintetizzare MLT poiché contengono anche 5-TH-decarbossilasi [117,118].

Esiste una grande quantità di dati farmacologici che indicano una notevole affinità funzionale e un'azione complementare tra piastrine e neuroni del sistema serotoninergico. Questa funzione delle piastrine, che rilasciano i loro depositi di 5-TH ed espellono materiale dai loro granuli quando attivate da stimoli appropriati, è stata considerata molto simile al rilascio di neurotrasmettitori da parte dei neuroni centrali. La reazione di rilascio delle piastrine e l'attività di secrezione insieme fungono da modello per il rilascio dei neuroni serotoninergici e adrenergici centrali [119-121].

#### 4.5. L'azione della melatonina sui microtubuli

MLT ha svolto la sua attività antitumorale anche sulle giunzioni gap intercellulari che mediano la comunicazione tra cellule adiacenti e sono strettamente connesse ai meccanismi che condizionano la crescita cellulare. Uno studio di Kojma et al. su epatociti di ratto hanno dimostrato l'induzione mediante MLT della proteina delle giunzioni gap CX32 [122-124].

Il processo di polimerizzazione della tubulina può anche essere uno degli obiettivi intercellulari dell'azione della MLT sulle cellule tumorali. Meléndez et al. hanno dimostrato che le concentrazioni fisiologiche di MLT inducono un aumento dei microtubuli nelle cellule di neuroblastoma NIE-115 e che questo effetto è dovuto ad un aumento dello stato di polimerizzazione della tubulina [80,125,126].

### 5. Melatonina e trattamento dei tumori

#### 5.1. Significato clinico e applicazione terapeutica

Diversi studi clinici hanno esaminato l'utilità terapeutica della melatonina in diversi tipi di cancro. La conclusione è che l'uso della melatonina come terapia adiuvante sembra essere molto utile sia per gli stadi iniziali che per i tumori avanzati e metastatici [127-130]. È stato anche segnalato l'aiuto nel contrasto degli effetti collaterali causati dalla chemioterapia e radioterapia [61,131-133]. Inoltre, tutte le indagini citate hanno documentato la bassissima tossicità della melatonina in un'ampia gamma di dosi. Sulla base di questi studi preliminari, sembra che la somministrazione di melatonina possa essere utile per i soggetti oncologici [134-137].

#### 5.2. Prospettive future dopo 30 anni di ricerca

La priorità assoluta dell'uso antitumorale della melatonina spetta a Luigi Di Bella, il quale riteneva che l'attività antiblastica della MLT non fosse limitata ai suddetti meccanismi d'azione, né alla biochimica della MLT o di altri metossindoli pineali [138,139]. È stato anche dimostrato che la



MLT può raggiungere il nucleo del megacariocita e svolgere un'azione simile alla citocalasina B, sia nell'inibire il processo di endoduplicazione che nell'aumentare la poliploidia nucleare [140,141]. Di Bella è stato il primo a identificare il ruolo fondamentale e primario della MLT nel fornire gli esteri fosforici di AMP, ADP e ATP [69].

Questo concetto è fondamentale per la relazione e la stretta connessione con la scuola di pensiero guidata da Goldberger, Epstein e Anfinsen, che consente anche la possibilità di autoassemblaggio e che la proteina può ripristinare spontaneamente la sua struttura tridimensionale con piena attività biologica (proteina pieghevole) [142].

Potrebbe essere la stessa o un'altra proteina che influenza le reazioni intermolecolari. Alcune proteine agiscono come chaperon molecolari e idrolizzando l'ATP attivano il ripiegamento di strutture proteiche altrimenti inerti [143,144]. Il meccanismo d'azione è stato spiegato da Ellis, che ha identificato le chaperonine come agenti sequestranti contenenti le singole strutture proteiche ripiegate nella gabbia di Anfinsen [145,146]. Secondo Luigi D Bella, nella biologia neoplastica l'azione delle chaperonine dovrebbe avvenire prevalentemente attraverso l'idrolisi di ATP, ADP e AMP legati con adenosina o MLT [69,98,99] (Figura 1).

### 5.3. Indicazioni relative al dosaggio proposto di melatonina nella prevenzione

Il dosaggio della MLT in prevenzione varia in base all'età, al sesso, alla familiarità, alle malattie attuali e / o pregresse, al tipo di attività svolta con l'esposizione a molecole cancerogene e / o in relazione alla durata dell'esposizione e all'intensità dei campi magnetici. Il dosaggio considera anche l'esposizione notturna durante il lavoro alla luce artificiale con relativa inibizione della secrezione pineale di MLT [120,147,148]. Per rafforzare il sistema immunitario attraverso l'aumento dell'interleuchina 2, la MLT, insieme ai retinoidi, alla vitamina E, alla vitamina C e alla vitamina D3, migliora le risposte immunitarie antifettive e antiblastiche; il dosaggio in prevenzione deve quindi essere aumentato nei soggetti immunodepressi [79].

Nei bambini, il dosaggio inizia con la somministrazione serale di 2 mg, aumentando gradualmente dopo l'adolescenza. Negli uomini adulti di peso ed età media, si possono somministrare 4-5 mg la sera; leggermente meno nelle femmine in età fertile: 2-3 mg. Dopo i 50 anni, soprattutto nelle donne in post-menopausa a causa della capacità della MLT di inibire le molecole potenzialmente cancerogene, oltre al GH, come la prolattina, gli estrogeni e gli androgeni, la dose può essere gradualmente aumentata a 10 mg [64,149–151] .

In presenza di mammelle fibrocistiche, cisti ovariche, miomi, fibromi uterini o ispessimento endometriale, si possono somministrare 15-20 mg a seconda dell'intensità della malattia. Dosi simili possono essere somministrate anche in caso di ipertrofia prostatica. In queste situazioni maschili e femminili spesso precancerose, il sinergismo con inibitori della prolattina e retinoidi solubilizzati nelle vitamine E e D3 si è rivelato particolarmente utile per l'elevata espressione recettoriale documentata nella prostata, nei microfibromi uterini e nella mammella, oltre a MLT e D2, VDR e Recettori RXR. Le stesse dosi e il sinergismo si applicano ai noduli della tiroide (normali o iperfunzionanti) che hanno anche un'espressione recettoriale simile. Nella tiroide, la diminuzione del volume dei noduli è accelerata dall'uso della somatostatina e anche di basse dosi (0,1-0,2 mg) di octreotide.

### 5.4. Indicazioni relative al dosaggio proposto di melatonina nel trattamento dei tumori

Sebbene la dose ideale di melatonina non sia stata ancora standardizzata, alcuni studi clinici, oltre ai nostri stessi risultati, hanno dimostrato che dosi orali giornaliere di 20-40 mg (distribuite uniformemente durante il giorno con concentrazioni maggiori la sera) [149–151], fino ad un massimo di 1000 mg di Melatonina somministrati lentamente e per via endovenosa durante la giornata, risultano perfettamente ben tollerati, con effetti utili e benefici per i pazienti [152,153]. In oltre 42 anni di esperienza nell'uso clinico della MLT da parte di Luigi Di Bella, Giuseppe Di Bella

e altri, la dose è stata gradualmente aumentata, senza tossicità o effetti collaterali significativi, se non temporanei sonnolenza segnalata da alcuni pazienti, generalmente all'inizio del trattamento, e molto raramente che rende necessaria una riduzione della dose. Ai pazienti diagnosticati in una fase iniziale / precoce della malattia possono essere somministrati 30 mg di melatonina per via orale e la dose massima è consigliata anche per i pazienti con disturbi del sonno. Poiché numerosi studi clinici hanno dimostrato che i pazienti con uno stadio avanzato / terminale della malattia o che non rispondono più ai trattamenti tradizionali possono beneficiare della somministrazione di dosi elevate di MLT; questi pazienti potrebbero prendere in considerazione l'assunzione di un supplemento di MLT di 100 mg.

Il legame idrogeno con l'adenosina (Figura 1) ne migliora la biodisponibilità, la rende idrosolubile e costituisce la molecola base per la sintesi e la diffusione degli esteri fosforici di AMP, ADP e ATP, che hanno un ruolo significativo nella biologia fisiologica e neoplastica, come precedentemente descritto .

## 6. Conclusioni

Nell'attuale mercato declino culturale, attutito dalla cultura superficiale degli eventi quotidiani, la semplificazione tecnologica razionale non è sempre in grado di compensare il peso dell'ignoranza progressista. Nel settore sanitario i costi sono saliti alle stelle perché vengono eseguiti troppi test inutili costosi, se non dannosi, perché i pazienti sono inondati di farmaci tecnicamente ed esteticamente perfetti ma inutili, se non tossici, e perché si prolungano le degenze ospedaliere costose e inutili.

L'ignoranza della vera malattia e dei rimedi appropriati per curarla è la causa primaria di cure scorrette, malessere del paziente e bilanci sproporzionati.

Il problema del cancro può essere risolto in modo soddisfacente e in gran parte solo con l'ottimizzazione, eliminando coraggiosamente l'irrazionalità del passato, protendendosi verso un futuro in cui il cancro diventi un evento normale della futura esistenza umana, perché i mezzi saranno stati trovati e applicati correttamente.

Se i medici ricordassero il detto fondamentale “Primum non nocere” rivolto al paziente, ma anche e soprattutto ai colleghi, allora il settore sanitario migliorerebbe senza dubbio. Nessuna professione è forse fondata tanto sulla morale quanto la professione medica. Ci sono numerosi detti famosi che lodano questa professione, alcuni evasivi e ingannevoli. Sarebbe sufficiente amare il proprio prossimo, aspirare a trasformare l'espressione del dolore in un'immagine progressiva di prognosi accettabile, per raggiungere lo scopo. Non è troppo aspettarsi il più alto livello di moralità generale dal proprio medico.

La voglia di tramandare, almeno in parte, le idee di Luigi Di Bella è stata lo stimolo per la pubblicazione di questa recensione, nella speranza che un giorno il suo sogno diventasse realtà. La base delle sue idee è considerare il cancro come una forma di vita, una vita che ha definito "potente, opprimente, parassitaria e anarchica". È necessario combinare una serie di sostanze che possono agire in modo centripeto sulle cellule tumorali e che possono avere effetto, di volta in volta, contemporaneamente o successivamente, sulla miriade di reazioni biologiche responsabili della vita di queste cellule. Ciò ha dato origine non a una sostanza ma a un metodo [42,153].

Considerando che: (a) il trattamento dei tumori solidi si basa essenzialmente sulla chirurgia; (b) non ci sono statistiche in letteratura sui tumori solidi curati in modo stabile con la sola chemioterapia e che se un tumore supera i limiti chirurgici, la chemioterapia e / o gli anticorpi monoclonali non sono in grado di curarlo; (c) i risultati degli attuali trattamenti medici per il cancro sono ancora estremamente limitati e sono spesso temporanei [154,155]; (d) i trattamenti chemioterapici sono penalizzati dalla tossicità, a volte fatale [156,157]; (e) grazie al suo effetto mutageno, la chemioterapia è in grado di selezionare ceppi di cellule tumorali sempre più resistenti e aggressive [158]; e (f) l'aumento della resistenza e dell'aggressività delle cellule tumorali può anche essere

indotto dalla radioterapia [159]; abbiamo voluto richiamare l'attenzione sull'utilizzo della MLT in oncologia, ritenendo che, combinando le proprietà antitumorali documentate con un effetto antitossico, trofico, immunostimolante, differenziante, radioprotettivo e radiosensibilizzante, le possibilità oncoterapiche di questo indolo pineale siano ancora fortemente sottovalutate [160 –166].