

Titolo: Melatonina come agente antitumorale contro il cancro al fegato: una revisione aggiornata - Melatonin as an Antitumor Agent against Liver Cancer: An Updated Systematic Review.

Codice: MLT014

Autore: Fernández-Palanca et al.

Data: 2021

Rivista: *Antioxidants* 10(1), 103

Argomento: Melatonina

Accesso libero: si

DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox10010103>

URL: <https://www.mdpi.com/2076-3921/10/1/103>

BLOG: <https://www.metododibellaevidenzescientifiche.com/2023/09/22/mlt014-fernandez-palanca-et-al-2021>

Parole chiave: colangiocarcinoma; carcinoma epatocellulare; cancro al fegato; melatonina

Tumore: cancro al fegato

Traduzione: l'articolo è stato tradotto in tutte le sue sezioni, ma con notevoli semplificazioni per le parti concernenti i meccanismi molecolari di azione della melatonina. La sezione "Materiali e Metodi" di questa traduzione semplificata è solo un breve riassunto di quella originale.

Punti di interesse: Nel presente articolo, viene esaminata sistematicamente la letteratura scientifica pubblicata negli ultimi 15 anni che si concentra sui principali meccanismi molecolari e cellulari associati agli effetti antitumorali della melatonina nei tumori del fegato e sulla sua potenziale utilità nel migliorare il trattamento di questi tipi di tumore. La ricerca bibliografica è stata effettuata utilizzando i database PubMed, Scopus e Web of Science e, dopo lo screening, sono stati inclusi 51 articoli pubblicati tra il 2005 e il 2020. I risultati degli studi selezionati hanno indicato le azioni utili della melatonina nel prevenire la carcinogenesi e come questo principio attivo sia una promettente opzione terapeutica per i tumori primari del fegato, il carcinoma epatocellulare (HCC) e il colangiocarcinoma (CCA), da solo o in combinazione con altri composti. L'analisi bibliografica dimostra come diversi processi vengono modulati dalla melatonina, come l'inibizione dello stress ossidativo, la proliferazione, angiogenesi e invasione cellulare, la promozione della risposta del sistema immunitario, l'arresto del ciclo cellulare, l'apoptosi, nonché il recupero dei ritmi circadiani e la modulazione dell'autofagia. Infine, studi di combinazione con diversi tipi di molecole, farmaci antitumorali, flavonoidi e chemioterapici, forniscono prove dei potenziali effetti della melatonina come agente coadiuvante per migliorare i trattamenti attuali. Nel complesso, questa revisione sistematica fornisce informazioni utili e supporta il ruolo della melatonina come farmaco promettente nell'armamentario terapeutico dei tumori al fegato.

Traduzione articolo

Riassunto

La melatonina (N-acetil-5-metossitriptamina) è un'indoleammina con proprietà antiossidanti, cronobiotiche e antinfiammatorie; livelli ridotti di questo ormone sono associati a un rischio più elevato di cancro. Diversi effetti benefici della melatonina sono stati descritti in un ampio

numero di tumori, compresi i tumori del fegato. In questo lavoro abbiamo esaminato sistematicamente le pubblicazioni degli ultimi 15 anni che hanno valutato i meccanismi alla base delle attività della melatonina contro i tumori del fegato e il suo ruolo come coadiuvante nel trattamento di questi tumori. La ricerca bibliografica è stata effettuata utilizzando i database PubMed, Scopus e Web of Science (WOS) e, dopo lo screening, sono stati inclusi 51 articoli. I risultati degli studi selezionati hanno indicato le azioni utili della melatonina nel prevenire la carcinogenesi e come sia una promettente opzione terapeutica per i tumori primari del fegato, il carcinoma epatocellulare (HCC) e il colangiocarcinoma (CCA), da solo o in combinazione con altri composti. Diversi processi vengono modulati dall'indolo, come l'inibizione dello stress ossidativo, della proliferazione, dell'angiogenesi e dell'invasione, la promozione della risposta del sistema immunitario, l'arresto del ciclo cellulare e l'apoptosi, nonché il recupero dei ritmi circadiani e la modulazione dell'autofagia. Nel loro insieme, la presente revisione sistematica evidenzia le prove che documentano il potenziale ruolo della melatonina nel migliorare il panorama del trattamento del tumore al fegato.

1. Introduzione

Il cancro primario del fegato costituisce il sesto tipo di tumore più diffuso ed è la quarta causa comune di mortalità correlata al cancro in tutto il mondo [1]. Nel 2018 sono stati diagnosticati un totale di 841.080 nuovi casi, con una stima di 781.631 decessi e un tasso di mortalità standardizzato per età di 8,5/100.000. I tipi più frequenti di cancro primario del fegato negli adulti sono il carcinoma epatocellulare (HCC) e il colangiocarcinoma (CCA), che costituiscono il 70-85% dei casi di HCC e il 30-15% di CCA, a seconda del paese [2]. Il cancro al fegato si manifesta anche nei bambini e negli adolescenti, rappresentando l'epatoblastoma (HB) e l'HCC rispettivamente nel 67-80% e nel 20-33% dei casi [2,3].

Sfortunatamente, alla maggior parte dei pazienti affetti da cancro al fegato viene diagnosticata una malattia in fase avanzata, quando il trattamento chirurgico non è più un'opzione disponibile [4]. Inoltre, l'elevata mortalità associata al cancro del fegato è legata alla sua mancanza di sensibilità e allo sviluppo di resistenza ad alcuni trattamenti che portano al fallimento della chemioterapia. Questi inconvenienti possono essere spiegati, almeno in parte, dai vari fenotipi e caratteristiche istologiche delle cellule epatiche tumorali e dal loro microambiente [5]. Inoltre, l'elevata refrattarietà del cancro al fegato ai trattamenti è stata associata all'interazione di meccanismi di chemioresistenza molto complessi e diversi, che possono agire sinergicamente per proteggere le cellule tumorali dagli agenti chemioterapici [3].

La melatonina (N-acetil-5-metossitriptamina), il principale prodotto della ghiandola pineale, è un'indoleammina con proprietà antiossidanti, cronobiotiche e antinfiammatorie [6]. Una riduzione dei livelli di melatonina o una ridotta escrezione del suo principale metabolita, la 6-sulfatossimelatonina, sono stati correlati ad un aumento del rischio di cancro, suggerendo un ruolo antitumorale di questa indoleammina [7]. Collettivamente, i dati pubblicati supportano fortemente le azioni oncostatiche della melatonina su diversi tipi di tumori, incluso il cancro al fegato [8,9,10]. Il ruolo inibitorio della melatonina nei tumori epatici coinvolge una serie di diversi processi molecolari e cellulari tra cui la riduzione della proliferazione cellulare, l'arresto del ciclo cellulare, la limitazione dell'angiogenesi e delle metastasi e la promozione della morte cellulare [10,11,12,13,14,15,16, 17]. Inoltre, secondo quanto riferito, la melatonina aumenta la sensibilità delle cellule tumorali del fegato ai trattamenti attualmente disponibili [4,18].

Nel presente articolo, esaminiamo sistematicamente la letteratura scientifica pubblicata negli ultimi 15 anni che si concentra sui principali meccanismi molecolari e cellulari associati agli effetti antitumorali della melatonina nei tumori del fegato e sulla sua potenziale utilità nel migliorare il trattamento di questi tipi di tumore.

2. Materiali e metodi: strategia di ricerca/estrazione dei dati

Questa revisione sistematica è stata condotta seguendo le linee guida PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) [19] (Tabella S1). Per ricerche bibliografiche complete, abbiamo condotto la ricerca di articoli in PubMed, Scopus e Web of Science (WOS) dall'inizio al 9 ottobre 2020, identificando un totale di 369 articoli, 88 da PubMed, 148 da Scopus e 133 da WOS con strategia di ricerca ben definita e applicando criteri di inclusione e di esclusione. Due autori hanno condotto la selezione degli studi in modo indipendente e qualsiasi disaccordo è stato risolto da un terzo autore. I documenti originali che soddisfacevano tutti i criteri di ammissibilità sono stati identificati e inclusi nell'analisi qualitativa. I dati dagli articoli inclusi sono stati estratti da due autori indipendenti.

3. Risultati

3.1. Selezione e caratteristiche dello studio

Dopo le ricerche nel database e l'identificazione degli articoli originali, 213 articoli sono stati selezionati per titolo e abstract. Tra questi, 57 documenti non soddisfacevano i criteri di inclusione e quindi sono stati scartati. I restanti 156 articoli sono stati analizzati individualmente e 105 di essi soddisfacevano i criteri di esclusione sono stati poi rimossi, lasciando 51 pubblicazioni identificate come studi rilevanti incluse in questa revisione sistematica.

Negli ultimi anni è stato pubblicato un numero crescente di articoli che riportano le proprietà benefiche della melatonina nei tumori al fegato (Figura 2). I dati principali forniti dagli studi inclusi sono raccolti nella Tabella 1. Tra queste pubblicazioni, cinque studi sono stati eseguiti con modelli di colangiocarcinoma (CCA) e i restanti 46 hanno utilizzato modelli di carcinoma epatocellulare (HCC), il che è in accordo con il fatto precedentemente menzionato che HCC e CCA sono i principali tumori epatici primari. Si segnala inoltre che 50 articoli hanno analizzato le proprietà della melatonina come trattamento singolo, mentre 32 hanno valutato potenziali combinazioni con agenti chemioterapici, inibitori specifici o composti antitumorali. Per quanto riguarda il modello sperimentale, 21 studi hanno indagato gli effetti della melatonina utilizzando modelli animali, 17 nell'HCC e 4 nel CCA, mentre 36 articoli hanno coinvolto analisi in vitro, 35 nell'HCC e solo uno nel CCA, trovando anche un caso segnalato nell'HCC. Sebbene la maggior parte degli articoli utilizzassero modelli cellulari o animali simili, l'intervallo di concentrazione di melatonina era ampio, da 0,01 da nM a 10 mM in colture cellulari e da 4 a 50 mg/kg negli esperimenti sugli animali.

Negli ultimi anni si è registrato un costante aumento del numero di pubblicazioni che utilizzano metodi sia in vivo che in vitro effettuate per analizzare il ruolo della melatonina nel ridurre l'epatocarcinogenesi. Questo è stato il caso degli studi che utilizzavano la melatonina come trattamento unico o quando veniva utilizzata in associazione con altre molecole.

La sezione seguente riassume i principali risultati ottenuti negli ultimi 15 anni. Poiché il carcinoma epatocellulare costituisce il tumore del fegato più frequente, la maggior parte dei dati sono correlati a questo fenotipo tumorale; i risultati su altri tipi di cancro vengono riepilogati quando disponibili.

3.2. Melatonina come agente antiossidante e cronobiotico nel cancro al fegato

I processi cancerogeni spesso coinvolgono lo stress ossidativo e la somministrazione di molecole antiossidanti può ridurre il danno agli epatociti cancerosi [61,62,63]. La melatonina agisce come antiossidante indiretto e come scavenger diretto dei radicali liberi e mostra un ruolo importante come agente immunomodulatore e cronobiotico in diversi tessuti, compreso il fegato [6,14,64,65]. In un modello animale di epatocarcinoma, si rilevano aumenti delle transaminasi epatiche (aspartato e alanina transaminasi, AST e ALT rispettivamente), dell' α -fetoproteina, del peso del fegato e dell'incidenza del tumore. Inoltre, l'epatocarcinogenesi ha indotto anche altri cambiamenti sintomi di un aumento dello stato ossidativo. La somministrazione di melatonina (5 mg/kg di peso corporeo

per 20 settimane) ha annullato questi cambiamenti e ridotto lo stress ossidativo e l'epatocarcinogenesi [20, 22].

Nonostante la nota azione antiossidante della melatonina, in determinate circostanze questa indolamina può indurre un aumento dello stress ossidativo. Il nostro gruppo ha dimostrato che la co-somministrazione di melatonina (1 e 2 mM) con sorafenib 2,5 mM (un farmaco inibitore della multichinasi che costituisce il trattamento standard dell'HCC), in linee cellulari derivate dall'HCC umano, ha prodotto l'accumulo di specie reattive dell'ossigeno (ROS) nei mitocondri che ha indotto l'attivazione della morte cellulare, un processo che può essere utile per migliorare la sensibilità delle cellule tumorali al sorafenib [18].

Sfortunatamente, le informazioni relative agli effetti antitumorali della melatonina che coinvolgono la sua capacità antiossidante in altri tumori del fegato sono più limitate. Alcuni esperimenti condotti utilizzando linee cellulari umane di colangiocarcinoma (CCA) hanno dimostrato che la somministrazione di melatonina (0,5, 1 e 2 mM per 48 h) aumenta la produzione di ROS portando alla morte cellulare per apoptosi in una concentrazione - modo dipendente [39]. Inoltre, è stato riscontrato in un modello in vivo di CCA in criceti che la somministrazione di melatonina a dosi diverse (5, 10 e 20 mg/kg di peso corporeo per 30 giorni) riduce in modo dose-dipendente lo stress epatico e lo stress ossidativo/nitrosativo, diminuisce l'espressione di geni che generano ossidanti e aumenta l'espressione di geni che codificano per proteine antiossidanti [26]. Questi risultati suggeriscono che la modulazione dello stress ossidativo e nitrosativo da parte della melatonina potrebbe essere utile non solo contro l'HCC ma anche nel trattamento e nella prevenzione della CCA.

Poiché l'orologio circadiano svolge un ruolo chiave nella fisiologia epatica ed è noto che la cronointerruzione aumenta l'epatocarcinogenesi [66], sono stati condotti diversi esperimenti per analizzare l'associazione tra gli effetti antiossidanti e cronobiotici della melatonina nel carcinoma epatocellulare. Uno studio preliminare eseguito in un modello di HCC indotto in topi ha confrontato gli effetti della melatonina (0,5 mg/kg di peso corporeo) e dell'oxaliplatino (2 mg/kg di peso corporeo) quando somministrati per 10 settimane. I risultati hanno mostrato che entrambi i farmaci hanno migliorato i cambiamenti nella funzionalità epatica e hanno normalizzato le attività antiossidanti [38].

Questi risultati sono stati confermati in un altro studio, utilizzando un modello simile di HCC indotto nei ratti, in cui la melatonina (5 mg/kg di peso corporeo per 20 settimane) e l' α -chetoglutarato (2 g/kg di peso corporeo per 20 settimane) sono stati confrontati per gli effetti antitumorali associati ai cambiamenti nei ritmi circadiani del sistema antiossidante. In questo studio, gli autori hanno osservato che i tumori rilevabili al fegato venivano completamente prevenuti dalla melatonina o dall' α -chetoglutarato e neutralizzate le variazioni dei ritmi circadiani del sistema antiossidante dal carcinogeno usato per indurre il tumore. Collettivamente, questi risultati suggeriscono che la melatonina, come ad altre molecole antitumorali dell'HCC come l' α -chetoglutarato, può modulare i ritmi di 24 ore del metabolismo lipidico e degli antiossidanti [23]. I risultati di altri studi sono in accordo con i risultati precedenti. Pertanto, è stato dimostrato che la melatonina modula il ritmo circadiano del metabolismo lipidico, degli enzimi antiossidanti e dei livelli di glutazione [21].

Infine, la modulazione dei ritmi circadiani da parte della melatonina è stata implicata non solo nella regolazione degli enzimi antiossidanti ma anche in alcuni cambiamenti metabolici. Uno studio combinato in vitro e in vivo, ha dimostrato che l'esposizione alla luce LED arricchita di blu diurna può ridurre la progressione del tumore attraverso un meccanismo associato all'aumento dei livelli di melatonina endogena. Ciò guida l'inibizione del metabolismo dell'epatoma attraverso la soppressione dell'effetto Warburg (assorbimento di glucosio e produzione di lattato) [52].

3.3. Arresto del ciclo cellulare da parte della melatonina nel cancro al fegato

La cancerogenesi è un processo a più fasi solitamente promosso da una proliferazione cellulare disturbata e incontrollata, con disregolazione del ciclo cellulare, associata ad un aumento della vitalità delle cellule tumorali. Nel carcinoma epatocellulare, l'esposizione di linee cellulari tumorali alla melatonina induce un calo della percentuale di cellule in fase di divisione cellulare, confermando l'effetto antiproliferativo della melatonina [24]. In uno studio più ampio, il nostro gruppo ha dimostrato che la somministrazione in vitro di melatonina (0,1-10 mM per 10 giorni) provoca una riduzione dose e tempo-dipendente della vitalità delle cellule di HCC umano; questi risultati sono stati associati a modificazioni della cinetica del ciclo cellulare legati all'induzione dell'espressione di geni legati al controllo del ciclo cellulare [10]. I risultati sono stati recentemente confermati da altri autori [12, 59].

Inoltre, nel colangiocarcinoma, esperimenti in vitro e in vivo e dati provenienti da biopsie umane hanno dimostrato una riduzione dei livelli di melatonina endogena ma un aumento dei recettori MT1 e MT2, che potrebbe costituire un meccanismo compensatorio da parte di questo tumore per ritardare la progressione della crescita cellulare indotta da una diminuita secrezione endogena di melatonina [28]. Curiosamente, esperimenti in vitro utilizzando cellule HCC HepG2 esposte a un campo magnetico (50 Hz, 10 μ T), che agisce come un presunto induttore della proliferazione cellulare, hanno riportato che la somministrazione di melatonina 10 nM produce effetti citostatici e antiproliferativi [30].

Altri studi, utilizzando un modello in vivo di HCC indotto nei topi, hanno osservato che la somministrazione di melatonina regola l'espressione di geni e proteine regolatrici del ciclo cellulare, riducendo l'attività di fattori di trascrizione e modulando altri sistemi di controllo della crescita/morte cellulare [47]. Inoltre, in studi in vitro utilizzando cellule tumorali del carcinoma epatocellulare, è stato dimostrato che questi effetti sono associati, almeno in parte, all'espressione normalizzata di proteine componenti del meccanismo circadiano nell'epatocarcinogenesi - quando è stata somministrata melatonina da 0,5 e 1 mM [14].

La somministrazione combinata di melatonina può migliorare gli effetti citostatici e antiproliferativi di altre molecole contro l'HCC come sorafenib. Questi risultati sono stati convalidati utilizzando un modello in vivo di tumore trattato con 25 mg/kg di peso corporeo (al giorno per 18 giorni) [46]. Più recentemente, uno studio preliminare utilizzando cellule di HCC ha confermato che la melatonina aumenta gli effetti antiproliferativi della epigallocatechina-3-gallato (EGCG) [56].

3.4. Modulazione dell'apoptosi da parte della melatonina nel cancro al fegato

La resistenza all'apoptosi è uno dei principali segni distintivi del cancro e la sua induzione selettiva nelle cellule tumorali è emersa come un'interessante possibilità per nuovi trattamenti antitumorali. Nel fegato, la segnalazione apoptotica viene trasmessa principalmente attraverso due vie molecolari: quella estrinseca (o mediata dal recettore della morte) e quella intrinseca (o dipendente dai mitocondri) [67,68].

Esperimenti in vitro utilizzando cellule umane HepG2, hanno dimostrato che la somministrazione di melatonina (0,1-10 mM per 10 giorni) è in grado di indurre percorsi di apoptosi sia estrinseci che intrinseci in modo dose e tempo-dipendente [10, 29]. Inoltre, studi in vitro utilizzando cellule HCC Hep3B hanno dimostrato che la modulazione dei geni implicati nel meccanismo circadiano, mediante dosi di melatonina di 0,5 e 1 mM, può essere associata ad induzione dell'apoptosi [14].

La melatonina sensibilizza anche le cellule HCC allo stress del reticolo endoplasmatico (ER), inducendo così l'apoptosi [32, 41]. Questi risultati sono stati confermati utilizzando un modello in vivo di HCC indotto nei ratti, dove la melatonina (1 mg/kg di peso corporeo, al giorno per 45 e 90 giorni) ha provocato una risposta apoptotica [17].

Le informazioni relative all'effetto proapoptotico della sola melatonina in altri tumori del fegato sono più limitate, ma alcuni studi sono stati effettuati sia su linee cellulari che in modelli in vivo [39, 51].

Vari studi hanno indicato che la melatonina sensibilizza le cellule epatiche tumorali all'apoptosi quando somministrata in combinazione con la doxorubicina [25, 33, 34].

Sorafenib, come indicato in precedenza, è un farmaco di prima linea per il trattamento dell'HCC avanzato, ma nonostante la sua capacità di aumentare la sopravvivenza nei pazienti affetti da HCC, il suo successo è piuttosto basso nel lungo termine a causa dello sviluppo di diversi meccanismi di resistenza [69]. La co-somministrazione di melatonina da 1 a 5 mM promuove l'apoptosi indotta da sorafenib in modo dose-dipendente nelle cellule HCC HuH7 [44]. Inoltre, come indicato sopra, 50 μ M di melatonina hanno anche aumentato l'apoptosi indotta da regorafenib [70]. È stato notato che la melatonina può potenziare il regorafenib, promuovendo la disfunzione mitocondriale e induzione di apoptosi in linee cellulari di HCC [60].

La melatonina aumenta anche l'effetto proapoptotico del cisplatino, una molecola antitumorale frequentemente utilizzata nel trattamento del cancro, sottoregolando diverse proteine antiapoptotiche e sovraregolando le proteine che promuovono l'apoptosi, e sopprime la proliferazione cellulare [43, 59].

L'analisi dei geni associati alla resistenza al 5-fluorouracile (5-FU), un agente chemioterapico di routine, ha rivelato che una dose di melatonina di 2,5 mM induce la trascrizione di geni che migliorano la sensibilità a questo chemioterapico [58].

Negli ultimi anni c'è stato un crescente interesse sull'uso dei flavonoidi come agenti antitumorali [62]. Esperimenti in vitro hanno anche dimostrato che la co-somministrazione di melatonina da 2 e 4 mM potenzia gli effetti proapoptotici dell'EGCG nelle cellule HepG2, con conseguente aumento della citotossicità contro le cellule HCC [56].

Infine, in modelli in vivo di HCC la melatonina ha migliorato le terapie basate sulle cellule staminali mesenchimali (MSC) contro l'HCC attraverso diversi percorsi, inclusa l'apoptosi [54, 55].

3.5. Modulazione dell'autofagia da parte della melatonina nel cancro al fegato

L'autofagia costituisce un sistema di degradazione di massa che svolge un ruolo chiave nell'omeostasi cellulare al fine di promuovere l'adattamento e la sopravvivenza cellulare; tuttavia, una stimolazione eccessiva porta alla morte cellulare programmata invece che alla sopravvivenza in una serie di diverse situazioni fisiopatologiche inclusa la tumorigenesi [71]. Pertanto, nelle cellule tumorali l'autofagia può agire come un'arma a doppio taglio rimuovendo nuove cellule maligne e mitocondri danneggiati nelle fasi iniziali, ma inducendo la sopravvivenza in condizioni di ipossia e ischemia nelle fasi successive; può anche essere associata alla resistenza alla chemioterapia e alla progressione del tumore. [18].

Alcuni esperimenti in vivo hanno dimostrato che la melatonina (10 e 20 mg/kg di peso corporeo, al giorno per 14 giorni) innesca un processo di autofagia in topi portatori di carcinoma epatocellulare [31].

Il nostro gruppo ha scoperto che la somministrazione di melatonina 2 mM potrebbe indurre temporaneamente autofagia in linee cellulari di HCC [16].

La modulazione dell'autofagia sembra essere coinvolta nella sensibilità/resistenza delle cellule tumorali di HCC a trattamenti come il sorafenib [73]. La co-somministrazione di basse dosi di melatonina (10 μ M) con sorafenib aumenta la morte delle cellule tumorali, blocca l'autofagia pro-sopravvivenza indotta da sorafenib [43, 57].

La mitofagia, una forma distinta di autofagia, promuove il ricambio dei mitocondri danneggiati. Come indicato sopra, la co-somministrazione di melatonina (1 e 2 mM) con sorafenib 2,5 mM in cellule derivate da HCC umano, in condizioni normossiche, ha prodotto accumulo di ROS nei mitocondri e depolarizzazione della membrana mitocondriale. Dopo questi cambiamenti, è stata rilevata un potenziamento dell'apoptosi delle cellule tumorali e riduzione della proliferazione delle cellule tumorali [18]. Al contrario, in condizioni di ipossia, che è un fenotipo noto associato al fallimento della chemioterapia [74], la mitofagia ha agito come meccanismo protettivo nelle cellule

tumorali. Nelle cellule tumorali sotto ipossia, è stato dimostrato che la co-somministrazione di melatonina blocca la mitofagia citoprotettiva indotta dal microambiente ipossico dopo il trattamento con sorafenib [4].

La co-somministrazione di melatonina 1 mM con cisplatino, nelle cellule HCC, ha indotto la progressione dell'autofagia. Questi risultati confermano che la co-somministrazione di melatonina apporta benefici agli effetti antitumorali del cisplatino nell'HCC [37].

3.6. Modulazione dell'angiogenesi e invasione da parte della melatonina nel cancro al fegato

L'angiogenesi – il processo di crescita di nuovi vasi sanguigni dal sistema vascolare esistente – svolge un ruolo chiave nel facilitare la crescita del tumore e il processo metastatico e risulta da un equilibrio dinamico tra fattori proangiogenici e antiangiogenici. L'angiogenesi è stata ampiamente correlata alla progressione, all'invasione e alla metastasi dei tumori epatici e la sua inibizione rappresenta un approccio testabile per il trattamento di questo tipo di cancro [75,76,77].

Le condizioni normossiche all'interno del microambiente tumorale portano alla disattivazione e degradazione del fattore inducibile dell'ipossia 1-alfa (HIF-1 α), mentre in condizioni di ipossia questo fattore si stabilizza e si trasloca nel nucleo, inducendo l'espressione di diversi geni tra cui il fattore di crescita endoteliale vascolare proangiogenico (VEGF) [69, 78]. Esperimenti in vitro, eseguiti su cellule Hdi epatocarcinoma trattate con melatonina 1 mM, hanno dimostrato che la melatonina riduce l'espressione di VEGF e HIF-1 α , compromettendo la migrazione e l'invasione cellulare e riducendo la proliferazione cellulare sia in condizioni di normossia che di ipossia [40]. Ulteriori esperimenti in vitro hanno dimostrato che la melatonina non solo riduce la proliferazione cellulare ma interferisce anche con l'attivazione trascrizionale del VEGF; questo blocca l'angiogenesi e l'invasività delle cellule tumorali [13].

Altre ricerche effettuate su linee cellulari hanno dimostrato l'effetto antiproliferativo di questa indolamina, accompagnato dall'inibizione della migrazione cellulare e delle capacità di invasione in modo dose-dipendente; questi risultati sono stati confermati anche in un modello in vivo di trapianto di HCC in cui gli animali sono stati trattati con 40 mg/kg di peso corporeo di melatonina. La melatonina ha bloccato l'HIF-1 α , soppresso la transizione epiteliale-mesenchimale (EMT), progressione, migrazione e invasione cellulare [48]. Molecole di mRNA non codificanti per le proteine (lncRNA e micro-RNA) sono stati implicati nelle attività anti-invasive e antimetastatiche della melatonina nell'HCC [50, 53].

Le metalloproteinasi della matrice (MMP) sono una famiglia di endopeptidasi zinco-dipendenti che degradano la matrice extracellulare e la loro sovraespressione contribuisce alla crescita e alla metastasi dell'HCC inducendo l'angiogenesi [79]. Tra queste proteine, la MMP-9 è stata associata a diversi stadi di crescita tumorale, invasione vascolare e metastasi [80]. È stato riportato che la melatonina 1 mM riduce l'attività della MMP-9, compromettendo l'invasione cellulare e la motilità nelle cellule di epatocarcinoma [15].

Alcuni autori hanno indicato che la modulazione dell'HCC da parte della melatonina dipende sia dalle caratteristiche delle cellule tumorali che dalla concentrazione della molecola somministrata. I risultati indicano che l'applicazione clinica della melatonina nei pazienti con HCC dovrebbe considerare le caratteristiche del tumore epatico per ottimizzare le sue concentrazioni [27].

3.7. Immunomodulazione della melatonina nel cancro al fegato

Come indicato in precedenza, la melatonina funziona sia come antiossidante che cronobiotico e anche come agente immunomodulatore [6,14,64,65]. Alcuni casi clinici condotti nell'uomo hanno dimostrato che la co-somministrazione di 20 mg/die di melatonina insieme all'immunoterapia composta da interleuchina-2 (IL-2) e Bacillo Calmette-Guerin, dopo la rimozione chirurgica iniziale dei noduli, determina una riduzione della progressione dell'HCC e sviluppo di nuovi tumori al

fegato [36]. Tuttavia, sono necessari ulteriori studi che analizzino i meccanismi molecolari e cellulari implicati nel ruolo immunomodulatore della melatonina sul cancro al fegato.

Alcune informazioni rilevanti sono state ottenute da un interessante studio *in vitro* e *in vivo* utilizzando esosomi derivati da HCC non trattati o trattati con 0,1 mM di melatonina. I risultati di questi esperimenti hanno suggerito che gli esosomi trattati con melatonina modulando la risposta immunitaria [42].

Allo stesso modo, in un modello *in vivo* di CCA, è stata osservata la proliferazione delle cellule del dotto biliare con induzione dell'espressione del fattore di crescita trasformante β (TGF- β). Questi cambiamenti sono stati accompagnati da infiltrazione di cellule immunitarie T helper (Th17) produttrici di IL-17 e sovraespressione di un regolatore di sviluppo e funzione delle cellule T regolatorie, insieme ad aumenti sulle cellule infiammatorie, in particolare sugli eosinofili. La somministrazione di melatonina (50 mg/kg di peso corporeo, al giorno per 30 giorni) ha soppresso tutte queste alterazioni, suggerendo che l'indolo potrebbe essere efficace nel trattamento e nella prevenzione del CCA attraverso un duplice meccanismo che implica sia l'immunomodulazione che la sua capacità antinfiammatoria [49].

3.8. Limitazioni

Per quanto ne sappiamo, questa è la prima revisione sistematica che riassume gli effetti antitumorali della melatonina nel caso del cancro al fegato ed è stata scritta con l'intento di fornire una migliore comprensione dei meccanismi coinvolti. Tuttavia, vi sono alcune limitazioni, dovute principalmente alla grande quantità ed eterogeneità degli articoli infine inclusi. Sebbene il ruolo antiossidante della melatonina sia ben stabilito, ci sono altri studi in cui questo indolo ha promosso la generazione di ROS sia nell'HCC che nel CCA, il che potrebbe essere dovuto alle grandi concentrazioni di melatonina talvolta utilizzate. Questo potrebbe essere uno dei limiti principali; quindi, sia *in vitro* che *in vivo*, la dose/concentrazione di melatonina variava ampiamente tra gli esperimenti qui riassunti. Ciò ha impedito di trarre conclusioni definitive sull'efficacia assoluta della melatonina come trattamento per il cancro al fegato. Fortunatamente, la melatonina non presenta una tossicità significativa quando somministrata agli animali, compreso l'uomo, e può essere somministrata in quantità molto ampie. Inoltre, è noto da anni che le concentrazioni necessarie per documentare gli effetti oncostatici della melatonina *in vitro* sono molto più elevate di quanto previsto rispetto ai risultati ottenuti *in vivo*. Ciò è stato interpretato nel senso che in condizioni *in vitro* tutte le azioni della melatonina non possono manifestarsi poiché il metabolismo delle cellule in coltura probabilmente differisce da quello *in vivo* [81].

In termini di ciclo cellulare, mancano indagini sugli effetti nel CCA, mentre l'arresto del ciclo cellulare *in vivo* indotto dalla melatonina è riportato in tutti gli studi sull'HCC. Allo stesso modo, anche la valutazione dell'autofagia nel CCA è limitata, mentre è stata completamente valutata nell'HCC. I risultati degli studi sull'autofagia sono alquanto divergenti, poiché l'autofagia agisce come un processo a doppio taglio nel cancro e la melatonina esercita anche una duplice azione sulla modulazione del meccanismo dell'autofagia a seconda del microambiente cellulare; anche la specificità del contesto relativa alle azioni della melatonina nel cancro è stata precedentemente segnalata [82]. Al contrario, gli effetti della melatonina sull'angiogenesi e le capacità invasive e migratorie nell'HCC sembrano essere coerenti tra le indagini, con alcuni risultati diversi causati dalle diverse caratteristiche del tumore e dalle concentrazioni di melatonina impiegate.

Una delle proprietà meno studiate della melatonina in riferimento al cancro al fegato è l'immunomodulazione. Sebbene sia stata dimostrata una chiara attività immunomodulante associata all'azione antinfiammatoria della melatonina sia nell'HCC che nel CCA, sono necessari ulteriori studi per accertarne i meccanismi sottostanti. Sebbene il numero di studi in cui sono state valutate strategie di combinazione con la melatonina sia limitato, gli articoli che analizzano la co-somministrazione con farmaci antitumorali, flavonoidi o molecole inibitori dimostrano un ruolo

potenziale della melatonina nel migliorare la sensibilità dei tumori epatici a diversi farmaci. In sintesi, ci sono ancora carenze in termini di potenziale utilità della melatonina come agente antitumorale, non solo come trattamento unico ma anche come trattamento combinato, sui diversi processi qui descritti.

4. Conclusioni

Questa è la prima revisione sistematica che raccoglie gli effetti antitumorali esercitati dalla melatonina nei tumori del fegato, un cancro purtroppo comune e mortale per il quale esistono opzioni terapeutiche limitate. I risultati degli studi qui esaminati suggeriscono che la melatonina ha generalmente proprietà benefiche nella prevenzione e nel trattamento dei principali tumori epatici primari, HCC e CCA, modulando un ampio numero di processi cellulari, proteggendo anche le cellule dall'epatotossicità di altri farmaci. Tra gli effetti della melatonina da sottolineare: miglioramento della risposta immunitaria, potenziamento dell'apoptosi e influenzamento in modo positivo del ciclo cellulare e i ritmi circadiani; inoltre compromette l'angiogenesi tumorale, l'invasione e la proliferazione cellulare. Considerando i suoi diversi ruoli sull'autofagia, la melatonina può modulare questo processo a seconda del contesto cellulare, sempre finalizzato a ostacolare la progressione del tumore. Infine, studi di combinazione con diversi tipi di molecole, farmaci antitumorali, flavonoidi e chemioterapici, forniscono prove dei potenziali effetti della melatonina come agente coadiuvante per migliorare i trattamenti attuali. Nel complesso, questa revisione sistematica fornisce informazioni utili e supporta il ruolo della melatonina come farmaco promettente nell'armamentario terapeutico dei tumori al fegato.