

Die Bedeutung des Melatonins in der Wechselbeziehung zwischen Zirbeldrüse und Krebs – eine Übersicht mit neuen Resultaten

Einführung

In den letzten Jahren hat das Verständnis um die molekularen Mechanismen bei der Entstehung von Krebs durch Erforschung von Onkogenen (Enrietto und Beug, 1994; Felsher, 2004) und Tumorsuppressor-Genen (Jenkins, 1994) beträchtlich zugenommen, und man versucht auf dieser Grundlage gezieltere Therapieansätze zu entwickeln (Felsher, 2004). Dennoch bleiben die genaueren Mechanismen bei vielen Krebsarten zu weiten Teilen unverstanden, obwohl eine kausale Rolle von Umweltfaktoren, z. B. von UV-Strahlung (Hautmelanome; Berwick und Wiggins, 2006), von Genussmitteln wie Tabak (Bronchialcarcinom; Spiro und Silvestri, 2005) und Alkohol (verschiedene Tumore des Verdauungssystems; Poschl et al., 2004) bei der Carcinogenese als gesichert gelten. Da Tumore zudem vermehrt im Alter auftreten, kann davon ausgegangen werden, dass auch endogene Faktoren, wie z. B. Hormone (Li et al., 1992) und damit verbundene Stoffwechselungleichgewichte (Hankinson, 2005), an der Krebsentstehung beteiligt sind. Dies gilt insbesondere für Neoplasien der reproduktiven Organe. Deshalb ist nicht verwunderlich, dass Krebs auch als entwicklungsbiologisches sowie epigenetisches Problem gesehen wird (Strohmaier, 1995; Rubin et al., 1996; Lu et al., 2006). Tumore entwickeln sich demnach durch eine fehlerhafte topographische Gewebsorganisation oder durch Ungleichgewichte innerhalb endokriner Regelkreise, wodurch es zu einer Beeinflussung der genetischen Mechanismen der Krebsregulation kommt (Saito und Jones, 2006). Im Falle einer Beteiligung gestörter endogener Organisationsstrukturen bei malignen Erkrankungen ist davon auszugehen, dass jene autonomen Hirnstrukturen, die für die Regulation der Körperhomöostase verantwortlich sind, auch im Krebs eine zentrale Rolle spielen. Neben dem Hypothalamus (Bindoni et al., 1973, 1980, 1986), dem obersten vegetativen Integrationsorgan und einer essentiellen Schaltstelle zwischen autonomem Nervensystem, Endokrinium und Immunsystem, wurde schon früh eine Beteiligung des Pinealorgans (Corpus pineale, Zirbeldrüse; Vollrath, 1981) im Krebsgeschehen vermutet. Aufgrund ihrer exponierten Lage im geometrischen Zentrum des Gehirns nahmen manche Anatomen zu Beginn des letzten Jahrhunderts an, dass es sich bei diesem singulären Organ um die höchste endokrine Drüse handelt, welche eine zentrale Funktion bei der Kontrolle reproduktiver Funktionen

besitzt (Engel und Bergmann, 1952). Genährt wurden diese Vermutungen durch klinische Beobachtungen bei Kindern mit Zirbeldrüsentumoren, welche in vielen Fällen *pubertas praecox* entwickeln. Experimentelle Studien zeigten zudem, dass Zirbeldrüsenextrakte anti-gonadal sowie anti-gonadotrop wirkten und außerdem das Körperwachstum bei Tieren hemmten.

Aufgrund dieser Befunde vermuteten die in den dreißiger Jahren in Wien arbeitenden Bergmann und Engel, dass Zirbeldrüsenextrakte das Wachstum maligner Tumoren hemmen (Engel, 1935). Ihre experimentellen Untersuchungen mit Benzpyren-induzierten Fibrosarcomen bestätigten diese Annahme (Bergmann und Engel, 1950), so dass sich der ebenfalls in Wien arbeitende Hofstätter ermutigt sah, Krebspatienten mit wässrigen Rinderzirbeldrüsen-Extrakten zu behandeln. Er verwendete die Extrakte in Kombination mit den damals etablierten onkologischen Behandlungsmethoden, der chirurgischen Entfernung des Primärtumors sowie der Strahlentherapie. Im Jahr 1959 fasste er seine ermutigenden klinischen Erfahrungen bei etwa 150 Krebspatienten zusammen, welche hauptsächlich unter Mammacarcinomen sowie Tumoren des reproduktiven Trakts litten (Hofstätter, 1959). Ähnliche Resultate wurden kurz nach Ende des zweiten Weltkriegs bei der Behandlung von Prostatacarcinom-Patienten berichtet (Altieri und Sorrentino, 1956; Bibus, 1957), bei denen nicht nur eine Kontrolle des Tumorstadiums beobachtet wurde, sondern es auch zur Schmerzlinderung sowie einer Verbesserung des Allgemeinzustands kam.

Eine weitere wesentliche Unterstützung für die Annahme einer Wechselbeziehung zwischen der Zirbeldrüse und Krebs ergaben experimentelle Studien, bei denen die chirurgische Entfernung des Pinealorgans (Pinealektomie) nicht nur das Wachstum des Primärtumors sondern auch dessen metastatische Streuung förderte (Rodin, 1963; Barone und Das Gupta, 1970; Barone et al., 1972). Gemäß der Untersuchungen von Bindoni (1971) ist die Proliferations-fördernde Wirkung der Pinealektomie keineswegs auf maligne Zellen beschränkt, sondern auch gesunde Zellen, wie z. B. der Adenohypophyse und des Gastrointestinaltraktes, werden durch Abwesenheit des Pinealorgans in ihrer Zellteilung gefördert.

Aus diesen verschiedenen Beobachtungen zwingt sich die Vermutung auf, dass im Pinealorgan grundlegende Mechanismen zur zentralen Kontrolle des Zellwachstums

verankert sind, welche potentiell zur Entwicklung neuer onkologischer Therapiekonzepte sowie zu einer verbesserten Krebsprophylaxe führen könnten. Histopathologische *post mortem*-Untersuchungen bei Krebspatienten wiesen zudem darauf hin, dass die Zirbeldrüse in frühen Stadien der Tumorerkrankung eine Phase der Hyperaktivität durchschreitet, während sie in späten Phasen erschöpft scheint (Relkin, 1976), wahrscheinlich aufgrund vorangegangener vermehrter sekretorischer Aktivität, die den malignen Prozess zu hemmen versuchte. Diese Resultate weisen darauf hin, dass offenbar eine wechselseitige und dynamische Beziehung zwischen der Zirbeldrüse und Krebs existiert. Nach der Entdeckung des Melatonins durch Lerner und seine Mitarbeiter im Jahre 1958 eröffnete sich die Möglichkeit zu überprüfen, welche Rolle diesem Hormon dabei zukommt und ob dadurch sämtliche beobachteten Phänomene erklärbar sein würden.

Die frühen Arbeiten zur Thematik des Zusammenhangs zwischen Zirbeldrüse und Krebs, welche von der am Wiener Krebsforschungsinstitut arbeitenden Vera Lapin 1976 zusammengefasst wurden, wiesen darauf hin, dass Melatonin experimentelles Tumorstadium unter *in vivo*-Bedingungen in der Tat zu hemmen vermag. Bei genauerer Betrachtung der erzielten Resultate fiel uns jedoch zu Beginn unserer Arbeiten Ende der 70er Jahre auf, dass die gewonnenen Resultate eher recht widersprüchlich waren und selbst unter vergleichbaren experimentellen Bedingungen oft keine Reproduzierbarkeit erzielt wurde. Angeregt durch die Beobachtungen von R.J. Reiter sowie anderer amerikanischer Kollegen zur tagesperiodisch-modulierten anti-reproduktiven Wirkung des Melatonins bei Nagern als Teil photoperiodisch-kontrollierter Fortpflanzungsmechanismen (Reiter, 1978), vermuteten wir, dass auch seine anti-neoplastische Wirkung nur dann beobachtbar sein würde, wenn es am späten Nachmittag kurz vor Beginn der Scotophase (d. h. der Dunkelheit) verabreicht würde.

Einfluss des Melatonins auf experimentelles Krebswachstum

***In vivo*-Untersuchungen**

Die Wirkung des Melatonins auf experimentelle Tumore ist tagesperiodisch moduliert

Im Verlauf unserer ersten Untersuchungen führten wir zunächst an tumortragenden Mäusen eine Reihe von Experimenten durch, bei denen Melatonin unter verschiedenen Photoperioden sowie zu unterschiedlichen Tageszeiten, jedoch gleichen Dosen, appliziert wurde. Bei den verwendeten Tumorsystemen handelte es sich um ein intraperitoneal wachsendes Fibrosarcom, welches ursprünglich durch Methylcholanthren chemisch induziert worden war, sowie um einen soliden intramuskulären Tumor, erzeugt durch

die Injektion von Ehrlich Ascites Tumorzellen (Bartsch H und Bartsch C, 1981). Bei beiden Tumorsystemen wurde jeweils ein Experiment unter einer sog. langen Photoperiode (L:D = 13:11) sowie unter einer sog. kurzen Photoperiode (L:D = 12:12 oder L:D = 8:16) durchgeführt (Es handelt sich um eine lange Photoperiode, wenn die Länge der Beleuchtungsphase $\geq 12,5$ h innerhalb eines 24-stündigen Licht-Dunkelwechsels beträgt).

Dabei wurde Melatonin jeweils entweder am Morgen oder am späten Nachmittag injiziert und mit der Wirkung des Lösungsmittels verglichen. Melatonin hemmte das Tumorstadium ausschließlich bei nachmittäglicher Gabe (Abb. 1), während es das Krebswachstum morgens förderte, zudem war die Hemmwirkung des Melatonins unter langen Photoperioden ausgeprägter als unter kurzen. Wrba und Kollegen (1983) bestätigten unsere Ergebnisse bei Untersuchungen von C3H-Mäusen mit spontanen Brusttumoren, in deren Verlauf Melatonin zu sechs verschiedenen Tageszeiten appliziert wurde. Dies bedeutet somit, dass die Wirkung des Zirbeldrüsenhormons auf das Tumorstadium in kritischem Maß vom tagesperiodischen Zeitpunkt seiner Gabe abhängt und zur Entfaltung seiner optimalen Hemmwirkung am späten Nachmittag vor Beginn der Dunkelheit zu verabreichen ist, was seitdem bei Versuchen zur Überprüfung der *in vivo*-Tumorstadiumhemmung des Melatonins generelle Praxis geworden ist.

Zwangsläufig resultiert daraus die Frage, warum Melatonin in seiner Wirkung auf malignes Wachstum eine derartig strenge Abhängigkeit von der Tageszeit zeigt, ebenso wie auf das reproduktiv-endokrine Geschehen. Spätnachmittägliche Melatonin-Injektionen, welche das Tumorstadium, aber auch die endokrinen Organe, zu hemmen vermögen, führen zu einer Verbreiterung des nächtlichen Melatoninprofils im Blut, welches prinzipiell durch den Anstieg der sekretorischen Aktivität der Zirbeldrüse zu Beginn der Dunkelheit bedingt ist. Zu diesem Zeitpunkt weisen die Melatoninrezeptoren im Körper ihre höchste Dichte auf (Gauer et al., 1993), so dass über das neuroimmunoendokrine Netzwerk oder direkt auf zellulärer Ebene das Krebsgeschehen kontrolliert werden kann. Demgegenüber führen morgendliche Injektionen zu einer unphysiologischen Verbreiterung zirkulierenden Melatonins, welches zu dieser Zeit nach Abschluss der nächtlichen Sekretionsphase seinem Minimum zustrebt. Auf diese Weise könnte man eine Unempfindlichkeit des Tumorstadiums gegenüber morgendlichen Melatoningaben erklären, nicht aber die beobachtete paradoxe Proliferations-fördernde Wirkung. Deshalb muss angenommen werden, dass an diesem Phänomen noch unbekannte Mechanismen beteiligt sind, welche entweder direkt auf der Ebene des Tumors oder aber indirekt über das neuroimmunoendokrine Netzwerk wirken. Dabei wäre z. B. an eine Suppression der zellulären Immunität zu denken oder aber an eine vermehrte Bildung von Hormonen sowie von Cytokinen, welche Zellteilungs-fördernd wirken.

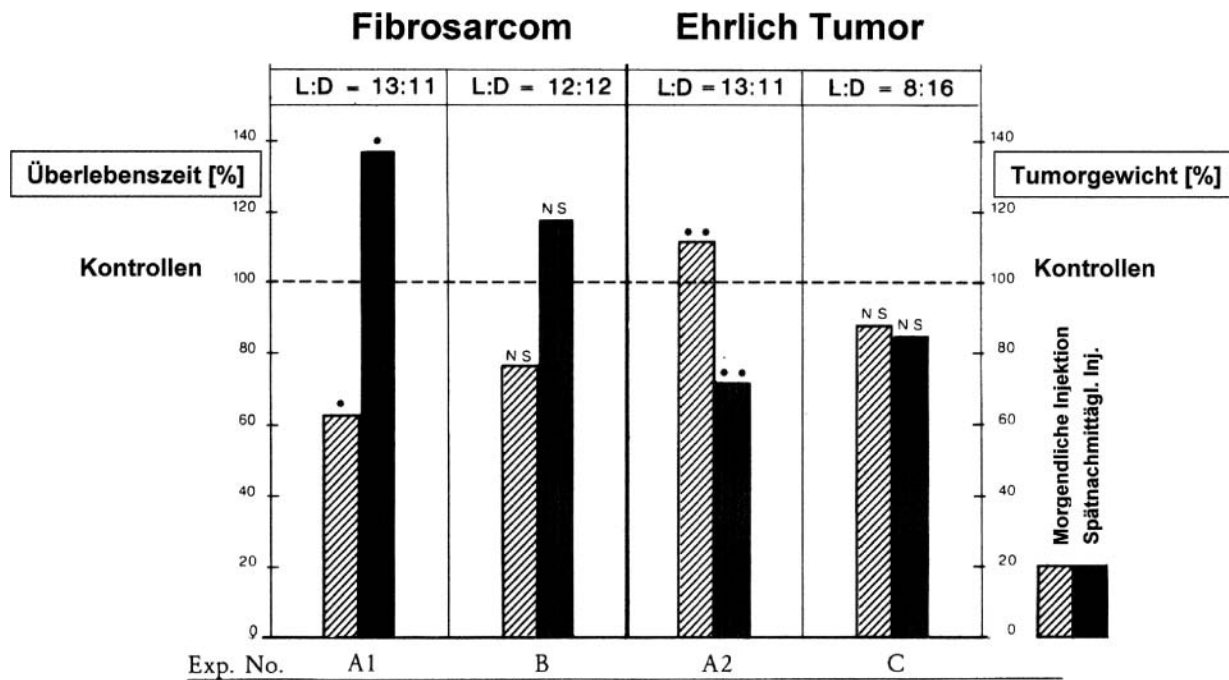


Abb. 1: Effekte von Melatonin-Injektionen am Morgen und am späten Nachmittag (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; NS nicht signifikant). Injektionen am Morgen wurden unter L:D = 13:11 zwischen 10 und 11 Uhr (*hours after lights on*; HALO 4,5) verabreicht, unter L:D = 12:12 sowie L:D = 8:16 um 11 Uhr (HALO: 4,5 bzw. 0,5). Aus: Bartsch H und Bartsch C. 1981, J. Neural Transm 52: 269–279.

Abschließend sei der Frage nachgegangen, warum exogenes Melatonin seine optimale Hemmwirkung unter langen Photoperioden entfaltet. Licht übt bekanntermaßen eine hemmende Wirkung auf die körpereigene Melatonin-Bildung aus (Brainard et al., 1988), weshalb die Breite seines nächtlichen Sekretionsprofils umgekehrt proportional zur Beleuchtungslänge ist. Durch diese Verschmälerung des Melatonin-Signals kommt es u. a. auch zu einer Verminderung seiner Tumorchemmwirkung. Exogenes Melatonin, spätnachmittäglich verabreicht, wirkt dieser Abnahme entgegen, wodurch wiederum eine bessere Kontrolle über das Tumorgeschehen erfolgt. Bei zunehmender Länge der Beleuchtungsphase kommt es zu einer parallelen Verschmälerung des nächtlichen Sekretionschubs des Zirbeldrüsenhormons, welcher dann unter Dauerlicht vollständig unterdrückt wird. Diese sog. physiologische Pinealektomie hat zur Folge, dass experimentelles Tumorwachstum bei Tieren deutlich stimuliert wird im Vergleich zu Kontrollen, welche unter einer langen Photoperiode (z. B. L:D = 14:10; Shah et al., 1984; Abb. 2) oder gar einer kurzen Photoperiode gehalten werden (Blask et al., 2003).

Experimentelle Mammacarcinome

Huggins und Mitarb. (1959, 1961) entdeckten, dass die einmalige orale Gabe von 7,12-Dimethylbenz(a)anthrazen (DMBA) bei 50–60 Tage alten weiblichen Sprague-

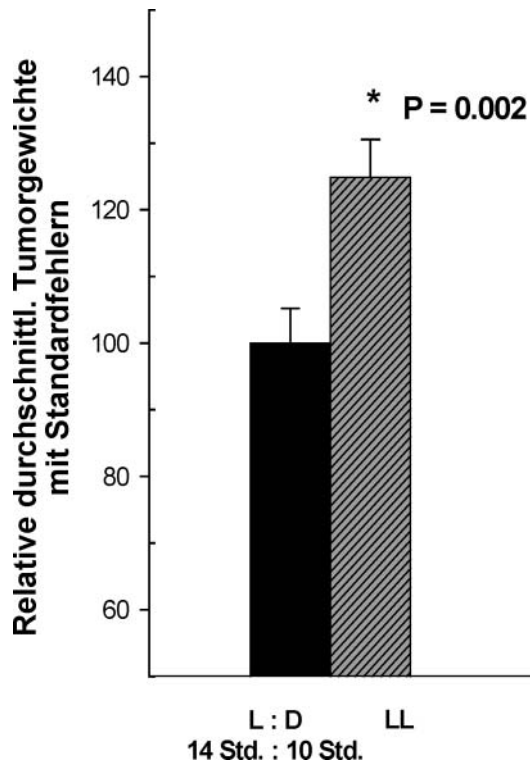


Abb. 2: Dauerlicht (LL) führt zu einer signifikanten Erhöhung des Tumorgewichts bei Schweizer Mäusen mit intramuskulär wachsenden soliden Ehrlich Tumoren im Vergleich zu Tieren unter L:D = 12:12. Aus: Bartsch C und Bartsch H. 2006, Cancer Causes Control 17:559–571.

Dawley Ratten Adenocarcinome der Mamma erzeugt. Dieses Tumorsystem entwickelte sich zu einem der am meist verwendeten tierexperimentellen Versuchsmodelle für menschlichen Brustkrebs, da es eine dem menschlichen Mammacarcinom vergleichbare Hormonabhängigkeit zeigt (LeClerq und Heuson, 1979). Das wichtigste Hormon, das Entstehung bzw. Wachstum DMBA-induzierter Mammatumoren beeinflusst, ist neben den gonadalen Steroiden (Huggins, 1965) das Prolactin (Meites, 1980). Behandlungen, welche die Konzentration dieser beiden Hormone im Blut senken, inhibieren, während Bedingungen, die zu deren Erhöhung führen, diese Tumoren stimulieren. Bereits zu Beginn der 80er Jahr berichteten sowohl Tamarkin et al. (1981) als auch Shah et al., (1984), dass abendliche Melatonin-Injektionen zu einer verminderten Inzidenz DMBA-induzierter Mammacarcinome führen. Die in diesem Fall an der Tumorchemmung beteiligten Mechanismen wurden von Subramaniam und Kothari (1991a) eingehender untersucht und ergaben, dass Melatonin nicht nur als Anti-Promotor wirkt, sondern auch den Krebsinitiationsprozess zu hemmen vermag. Die anti-promotorische Wirkung des Melatonins erklärt sich in diesem Fall dadurch, dass es auf verschiedenen Ebenen in die Biosynthese der gonadalen Steroide eingreift, sowohl zentral über eine Modulation der Gonadotropin- und Prolactin-Ausschüttung der Adenohypophyse (Lincoln, 1999) als auch direkt im Ovar (Tanavde und Maitra, 2003). Daneben vermag Melatonin auf dem Niveau der Krebszelle Rezeptor-vermittelt östrogenen Stimulation entgegenzuwirken (Hill und Blask, 1988). Die Hemmung der Initiation DMBA-induzierter Mammacarcinome durch Melatonin erfolgt dadurch, dass es die metabolische Aktivierung dieses Carcinogens zu seiner reaktiven Form, dem 3,4-Dihydrodiol-1,2-Epoxidderivat, unterdrückt (Kothari und Subramaniam, 1992). Melatonin vermag direkt in den Metabolismus des DMBA in der Leber einzugreifen, weil beide Stoffe durch mikrosomale, Cytochrom P450-enthaltende Monooxygenasen hydroxyliert werden. Deshalb ist es nicht verwunderlich, dass es umgekehrt bei DMBA-Gabe zu einem vermehrten Abbau des Melatonins aufgrund der Induktion der entsprechenden hepatischen Enzyme kommt (Bartsch C. et al., 1990a,b, 1993; Praast, 1991; Praast et al., 1995).

Bei Testung des Melatonins auf N-Nitroso-N-Methylharnstoff (NMH)-induzierte Mammacarcinome weiblicher Ratten, einem weiteren wichtigen Modellsystem hormonabhängigen menschlichen Brustkrebses, zeigte sich eine dem DMBA-Modell vergleichbare Hemmwirkung. Bei Verabreichung während der Promotionsphase reduzierten tägliche Melatonininjektionen am späten Nachmittag die Inzidenz dieser Tumoren (Blask et al., 1991), ohne jedoch die Konzentrationen zirkulierenden Östradiols sowie Prolactins zu beeinflussen. Da Melatonin das Östrogen-stimulierte Wachstum NMH-induzierter Tumoren bei ovariectomierten Tieren in gleicher Weise wie das Anti-Östrogen Tamoxifen zu hemmen vermochte,

kann vermutet werden, dass seine onkostatistische Wirkung direkt auf zellulärer Ebene erfolgt (Blask et al., 1991). Die Resultate zur Hemmwirkung des Melatonins im NMH-Modell sind von besonderer Bedeutung, da dieses System, wie hormonabhängiger menschlicher Brustkrebs, metastatisch streut und zudem unter primärer östrogenen Kontrolle steht und nicht durch Prolactin stimulierbar ist wie das DMBA-Modell.

Da menschlicher Brustkrebs im Gegensatz zu den erwähnten Tumormodellen nicht durch eine chemische Carcinogenese ausgelöst wird, sind experimentelle Therapieversuche bei Tieren mit Spontanumoren erforderlich. Spontane Mammatumoren kommen bei älteren Labornagern vor, können aber aufgrund relativ niedriger Inzidenzen nicht für systematische experimentell-therapeutische Untersuchungen verwendet werden. Eine Ausnahme bildet die Entwicklung von Mammacarcinomen bei weiblichen Mäusen des C3H-Stammes, welche sich aufgrund der Gegenwart des Bittner-Virus in der Muttermilch entwickeln. Subramaniam und Kothari (1991b) fanden, dass die Inzidenz derartiger Tumore durch chronische nächtliche Melatoningaben im Trinkwasser drastisch gesenkt wird.

Die bisher besprochenen Tierexperimente stellen aufgrund ihrer histopathologischen Erscheinung als Adenocarcinome und ihrer Östrogen-Abhängigkeit Modellsysteme für frühe Stadien menschlichen Brustkrebses dar. Sie werden durch exogenes Melatonin gehemmt und durch chirurgische bzw. physiologische Pinealektomie (Dauerlicht) in ihrem Wachstum gefördert, was wiederum durch Melatonin-Gabe antagonisierbar ist. Aufgrund dieser Befunde kann vermutet werden, dass die Zirbeldrüse über ihr Haupthormon Melatonin eine ätiologische Bedeutung bei menschlichem Brustkrebs hat und es theoretisch zur Behandlung früher und gut differenzierter Stadien verwendet werden könnte. Eine zentrale Frage aber ist, ob Melatonin auch in der Lage sein würde, weniger gut differenzierte experimentelle Mammacarcinome, modellhaft für fortgeschrittenen menschlichen Brustkrebs, zu hemmen.

Lee et al. (1981) entwickelten das oben erwähnte Hugginsche DMBA-Modell weiter, indem sie Adenocarcinome der Mamma bei weiblichen Fischer F344 Inzucht-Ratten zunächst mittels DMBA induzierten und diese Tumore dann anschließend auf Tiere desselben Stamms seriell transplantierten (was durch die Abwesenheit von Abstoßungsreaktionen bei diesen syngenen Tieren möglich ist). Im Verlauf der seriellen Passagierung erfolgten grundlegende intratumorale Gewebsumbildungen, wodurch die transplantierten Zellen ihre Empfindlichkeit gegenüber ovariellen Steroiden vollständig verloren und zudem distale Metastasen bildeten. Somit resultierte ein tierexperimentelles Modell für hormonunabhängigen fortgeschrittenen menschlichen Brustkrebs. Bei den Gewebsumbildungen handelt es sich um den Prozess einer sog. myoepithelialen-mesenchymalen Konversion (Bartsch C. et al., 2000), in deren Verlauf sich die ursprünglich che-

misch-induzierten Adenocarcinome der Mamma über Carcinosarcome (bei den Passagen zwei bis etwa sechs) zu reinen Sarcomen (ab Passage 8) entwickeln. Carcinosarcome besitzen noch epitheliale Zellelemente, welche in der zweiten Passage etwa 30 % der gesamten Tumormasse ausmachen, und unter östrogenen Kontrolle stehen. Die Sarcome der späteren Passagen ähneln menschlichen Rhabdomyosarcomen und weisen keinerlei Östrogenrezeptoren mehr auf. Parallel zum Verlust der epithelialen Zellelemente im Verlauf der seriellen Passagierung kommt es zu einer zunehmenden Erhöhung der Tumorzellwachstumskinetik. Erwähnt sei noch, dass die im Verlauf der Passagierung beobachtete Konversion von epithelialen zu mesenchymalen Zellen zu Beginn der 80er Jahre zunächst nur als Teil embryogenetischer Prozesse beschrieben wurde, jedoch heute als ein wichtiger Vorgang im intratumoralen *remodelling* des Gewebes im Verlauf der Progression vieler Carcinomerkrankungen angesehen wird (Kang und Massague, 2004); 18 % aller Fälle menschlichen Brustkrebses sollen davon betroffen sein, besonders dann, wenn es sich um aggressivere Erscheinungsformen handelt (Dandachi et al., 2001; Petersen et al., 2003).

In den 90er Jahren etablierten wir das von Lee modifizierte DMBA-Tumorsystem in unserem damaligen Tierversuchslabor an der Universitäts-Frauenklinik in Tübingen und führten damit Therapieversuche mit Melatonin bei unterschiedlichen Passagen durch. Die nächtliche Gabe im Trinkwasser (100 µg/Tier/Nacht) führte bei Tieren mit Tumoren der frühen Passage (Nr. 2) zu einer etwa 30 %igen Hemmung des mittleren Tumorzellvolumens, während bei einer späteren Passage (Nr. 12) keinerlei Wirkung auf das Tumorzellwachstum gefunden werden konnte (Bartsch H. et al., 1994a,b; Abb. 3a,b). Ebenso führte die chronische Suppression der nächtlichen Melatonin-Sekretion durch Dauerlicht zu keinerlei Beschleunigung des Tumorzellwachstums (Passage 14; Abb. 3c). Da die Tumoren der fortgeschrittenen Passagen 12 und 14 weder durch die Gabe von Melatonin noch durch die Suppression seiner endogenen Bildung beeinflussbar waren, muss davon ausgegangen werden, dass diese sarcomatösen Tumorzellen gegenüber dem Zirbeldrüsenhormon vollständig refraktär waren. Demgegenüber erklärt sich die etwa 30 %ige Hemmung der Tumoren der Passage 2 dadurch, dass etwa ein Drittel der Gesamttumormasse aus epithelialen Zellen bestand, welche Östrogenrezeptor-positiv und somit über zentrale sowie periphere endokrine Mechanismen hormonell kontrollierbar waren (Blask, 2001). Zudem muss eine Beteiligung immunologischer Abwehrmechanismen gegenüber den malignen Zellen angenommen werden, wie dies aus parallel durchgeführten analytischen Untersuchungen ableitbar ist, welche noch besprochen werden (Bartsch C. et al., 1994a, 1999; Bartsch H. et al., 2001a).

Divergente Wirkungen des Melatonins auf unterschiedliche experimentelle Tumoren

Ebenso wie bei den oben beschriebenen Effekten von Melatonin auf hormonabhängige bzw. -unabhängige Passagen eines *in vivo*-Brustkrebsmodells, ergaben sich auch bei der Behandlung transplantierbarer Prostatacarcinomlinien mit unterschiedlicher Androgen-Empfindlichkeit divergente Effekte. Während hormonempfindliche Linien gut hemmbar waren, reagierten hormonunabhängige nicht auf das Zirbeldrüsenhormon, wurden z. T. sogar stimuliert (Buzzell et al., 1988). Aufgrund dieser Beobachtungen ist es nicht verwunderlich, dass entdifferenzierte Transplantationstumoren, wie z. B. der Yoshida-Tumor, durch Melatonin gemäß Lapin und Ebels (1976) nicht beeinflussbar waren. Unklar ist, ob für den fehlenden inhibitorischen Effekt des Melatonins in diesem Fall allein eine mangelnde Hormonempfindlichkeit verantwortlich war, oder ob das Zirbeldrüsenhormon in diesem Fall nicht eventuell die auto- oder parakrine Sekretion von Wachstumsfaktoren stimuliert, welche einer eventuell noch vorhandenen direkten Hemmbarkeit der Tumorzellproliferation entgegenwirkte. Auf diese Möglichkeit weist die Beobachtung hin, dass *in vitro*-Explantate fortgeschrittener *in vivo*-Passagen der von uns verwendeten DMBA-induzierten Mammatumoren durch physiologische Melatonin-Konzentrationen zu etwa 30 % hemmbar waren (Bartsch H. und Bartsch C., unveröffentl. Resultate), während die Ursprungspassage des Explantates unter *in vivo*-Bedingungen keinerlei Beeinflussbarkeit zeigte (Abb. 3b), weil in diesem Fall möglicherweise eine parallele Stimulation durch bestimmte Cytokine erfolgte (Guerrero und Reiter, 2002). Eine stimulatorische Wirkung des Melatonins auf die Sekretion von Wachstumsfaktoren würde auch erklären, warum entdifferenzierte Tumoren, wie z. B. manche experimentelle Prostatacarcinome, durch Melatonin in ihrem Wachstum gefördert werden können.

Über derartige sog. paradoxe Wirkungen des Melatonins bzw. der Zirbeldrüse auf das Tumorgeschehen wurde verschiedentlich berichtet. Conti et al. (1992) beobachteten, dass die Überlebenszeit von Mäusen mit einer viral-induzierten Leukämie unter chronischer nächtlicher Melatonin-Behandlung wesentlich kürzer war als die entsprechender Kontrollen, während pinealektomierte Tiere länger lebten. Catrina et al. (2001) verabreichten AKR-Mäusen mit Ehrlich Ascites unter L : D = 14 : 10 kurz vor Beginn der Dunkelheit Melatonin und verursachten dadurch eine 32 %ige Lebenszeitverkürzung. In diesem Zusammenhang erwähnenswert ist, dass auch uns der Versuch einer Replikation der ursprünglich in Neu-Delhi durchgeführten Ehrlich Ascites-Experimente (Bartsch H. und Bartsch C., 1981) bei Verwendung einer anderen Unterlinie dieser Zellen in Tübingen in den 80er Jahren misslang. Bulian und Pierpaoli (2000) berichteten weiterhin, dass bei ihren Untersuchungen mit C3H/He-Mäusen, welche eine hohe Rate zur Bildung spontaner Mamma-

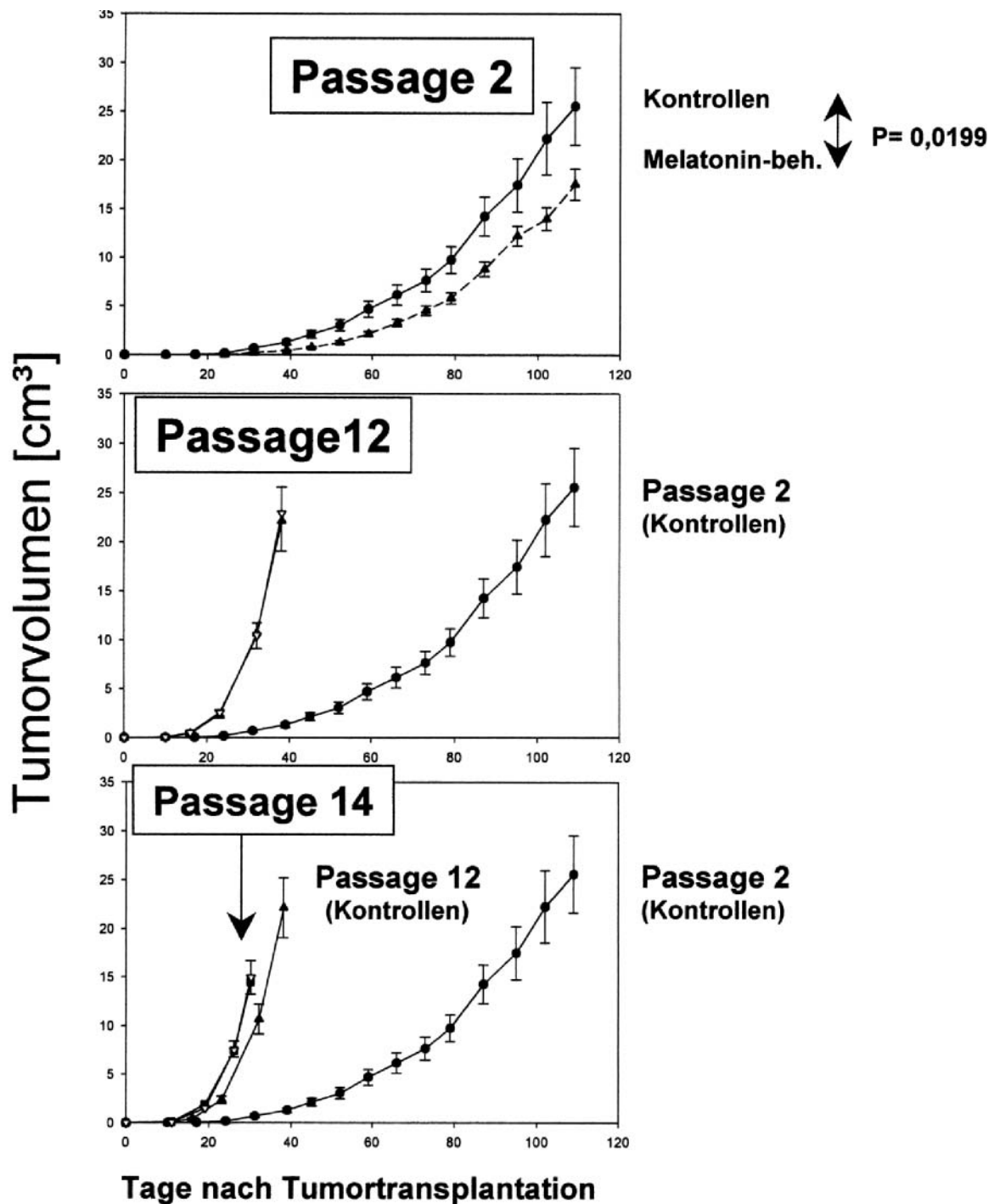


Abb. 3: Wachstumskurven von Tumoren unterschiedlicher Passagen auf ingezüchteten weiblichen F344-Fischer Ratten, welche ursprünglich durch das Mammacarcinogen 7,12-Dimethylbenz[a]anthracen (DMBA) induziert wurden. Wirkung chronischer nächtlicher Melatoningabe im Trinkwasser beginnend mit dem Tag der Tumortransplantation ($100 \mu\text{g}/\text{Tier}/\text{Nacht}$) bei Tieren mit Tumoren der Passage 2 (lokalisiert wachsende Carcinosarcome, 3a: oben) im Vergleich zu unbehandelten Tieren. Wirkung chronischer nächtlicher Melatoningabe im Trinkwasser beginnend mit dem Tag der Tumortransplantation ($100 \mu\text{g}/\text{Tier}/\text{Nacht}$) bei Tieren mit Tumoren der Passage 12 (metastasierende Sarcome, 3b: mitte) im Vergleich zu unbehandelten Tieren (beide Kurvenverläufe sind identisch). Weiterhin dargestellt sind die Wasser-behandelten Kontrollen der Passage 2, deren Wachstum wesentlich langsamer verlief. Wirkung chronischer Dauerlichtbehandlung bei Tieren der Passage 14 (metastasierende Sarcome, Abb. 3c: unten) im Vergleich zu Tieren derselben Passage, welche unter L:D = 12:12 gehalten wurden (beide Kurvenverläufe sind identisch) sowie zu den Kontrollen der Passage 12, deren Tumorstadium etwas langsamer verlief, und den Kontrollen der Passage 2, deren Tumore deutlich langsamer wuchsen. Aus: Bartsch C und Bartsch H. 2006, *Cancer Causes Control* 17:559–571.

carcinome zeigen und bei denen zuvor Subramaniam und Kothari (1991b) eine deutlich tumorhemmende Wirkung gefunden hatten, Melatonin zu einer verkürzten Tumortalenzzeit führte.

Diese Resultate weisen darauf hin, dass die Wirkung des Melatonins auf experimentell erzeugten Krebs nicht nur in kritischer Weise abhängig von der Art des Tumors und seinem histopathologischen Differenzierungsgrad ist, sondern selbst bei derselben Neoplasie äußerst unterschiedliche und nicht in jedem Fall replizierbare bzw. vorhersehbare Effekte auftreten können. Darauf sei im folgenden anhand unserer Untersuchungen mit Spontan-tumoren des Endometriums bei BDII/Han-Ratten im Detail eingegangen.

Nicht-replizierbare Effekte des Melatonins sowie von
Dauerlicht auf spontane Endometrialcarcinome
weisen auf noch unbekannte modulatorische
Einflussgrößen hin

90–95 % aller älteren virginellen Ratten des BDII/Han-Stamms, welcher am früheren Institut für Versuchstierzucht in Hannover gezüchtet wurde, bilden spontane Endometrialcarcinome (Deerberg und Kaspareit, 1987). Es handelt sich dabei um einen stark streuenden Tumor mit Metastasenbildung in Lunge und mediastinalen Lymphknoten. Er ist, wie auch das Endometrialcarcinom der Frau, durch 17β -Östradiol stimulierbar (Schütze et al., 1992) und durch Gestagene, wie z. B. das Melengestrol (Deerberg et al., 1995), hemmbar. Die Genese dieses Tumors scheint mit der Vaginalflora im Zusammenhang zu stehen, da bei Tierhaltung unter Sterilbedingungen eine stark verminderte Tumorzinzidenz beobachtet wird (Deerberg und Kaspareit, 1987). In diesem Tumorsystem sahen wir ein ideales Modell zur systematischen experimentellen Überprüfung der Wirkung der Zirbeldrüse und ihres Hormons Melatonin auf spontane Krebsentwicklung. In den 90er Jahren führten wir im Rahmen eines DFG-Projekts zwei größere Serien aufeinander folgender Experimente durch, in deren Verlauf wir sowohl die Wirkung chronisch-nächtlicher Melatoningabe im Trinkwasser als auch den Effekt physiologischer Pinealektomie, d. h. chronisch-nächtlicher Melatonin-Suppression unter Dauerlicht, untersuchten.

In der ersten Versuchsserie führte die chronisch-nächtliche Behandlung mit Melatonin (100 $\mu\text{g}/\text{Tier}/\text{Tag}$) zu einer signifikant verlängerten medianen Überlebenszeit im Vergleich zu Kontrollen (+33 Tage; $p = 0,042$), welche nur mit einer 0,05 %igen ethanolisch-wässrigen Lösung als Vehikel behandelt worden waren (Deerberg et al., 1997). Dabei wurde das Zirbeldrüsenhormon kontinuierlich ab dem 30. Lebenstag verabreicht (Abb. 4). In einem zusätzlichen Experiment erfolgte die Behandlung mit Melatonin erst ab dem 18. Lebensmonat, als davon auszugehen war, dass sich bereits Endometrialcarcinome

etabliert hatten. Dabei wurde eine marginale und nicht-signifikante Erhöhung der medianen Überlebenszeit um 18 Tage beobachtet. Diese beiden Resultate weisen darauf hin, dass Melatonin in der Lage ist, die Entwicklung spontaner Endometrialcarcinome zu hemmen, wenn mit der Applikation lange vor der eigentlichen Tumorentwicklung begonnen wird. Die Annahme, dass die Zirbeldrüse mit ihrem Hormon Melatonin in der Lage ist, diesen hormonabhängigen Spontantumor zu hemmen, wird noch dadurch gestützt, dass eine praktisch lebenslange nächtliche Melatonin-Suppression unter Dauerlicht, beginnend mit dem 30. Lebenstag, zu einer signifikanten medianen Lebenszeitverkürzung (–87 Tage; $p = 0,012$) gegenüber Kontrollen unter L:D = 12:12 führte (Bartsch H. et al., 1996; Deerberg et al., 1997; Abb. 5).

Zur Überprüfung und Ausweitung dieser Beobachtungen begannen wir im Jahr 1996 nach Abschluss der oben beschriebenen Versuche (1992–1995) eine Serie von Folgeexperimenten. Dabei sollte getestet werden, ob durch eine Erhöhung der Melatonindosis deutlichere Überlebenszeitverlängerungen erzielbar wären und inwiefern Melatonin der Überlebenszeit-verkürzenden Wirkung chronischer Dauerlichtbehandlung (physiologische Pinealektomie) entgegenzuwirken vermag. Überraschenderweise erzielten wir mit keiner der multiplen Versuchsansätze irgendeine signifikante Veränderung des Verlaufs der Sterblichkeit von BDII/Han-Ratten, weder durch Melatoningabe (selbst bei einer zehnfach erhöhten Tagesdosis), noch durch physiologische Pinealektomie. Diese Resultate sind um so verwunderlicher, da die Sterblichkeitskurven bei den verschiedenen Kontrollgruppen in der zweiten Experimentserie (1996–99) im Vergleich zu den Kontrollen der ersten Serie (1992–95) einen drastisch verzögerten Verlauf zeigten (mediane Überlebenszeit: +146 Tage; Abb. 5). Detaillierte mikroskopische Untersuchungen zusammen mit Dr. F. Deerberg zeigten, dass sich die Endometrialcarcinome und deren metastatisches Streuverhalten im Verlauf der beiden Experimentserien in keiner Weise verändert hatten, wodurch sich die stark differierenden Überlebenskurven der Kontrollen in den Jahren 1992 bis 1995 sowie 1996 bis 1999 hätten relativ leicht erklären lassen. Auffallend war jedoch, dass die Lungenmetastasen im 2. Experiment wesentlich kleiner waren als im ersten. Aus diesem Grund kann angenommen werden, dass das Abwehrverhalten des Körpers gegenüber dem malignen Prozess bei der zweiten Experimentserie durch einen unbekanntem Faktor stimuliert war und so zu einer deutlich erhöhten Lebenserwartung führte, welche einerseits durch Melatonin-Behandlung nicht weiter gesteigert werden konnte und andererseits auch gegenüber den negativen Effekten physiologischer Pinealektomie vollkommen inert war. Um welchen exogenen Faktor es sich dabei eventuell handeln könnte, soll im nächsten Unterkapitel angesprochen werden.

Als alternative bzw. zusätzliche Erklärungsmöglichkeit für die Unempfindlichkeit des Endometrialcarcinoms in

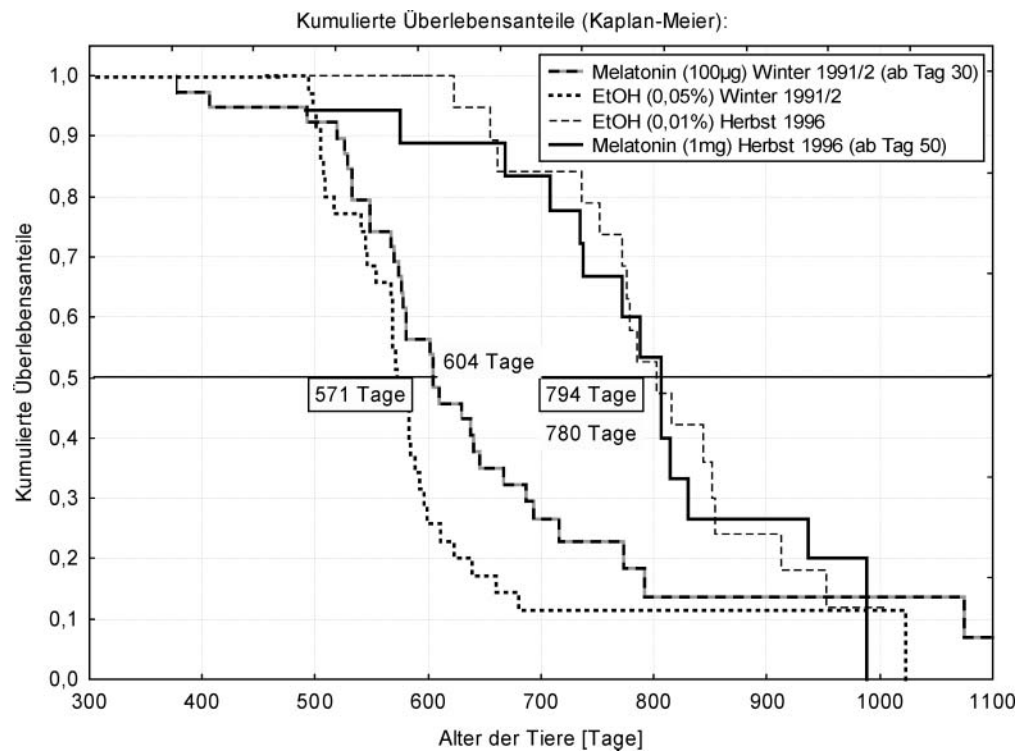


Abb. 4: Wirkung chronischer nächtlicher Melatonin-Behandlung im Trinkwasser auf die Überlebenszeit virgineller BDII/Han-Ratten mit spontanen Endometrialcarcinomen. Im ersten Experiment wurden im Winter geborene Tiere ab dem 30. Lebenstag täglich mit 100 µg Melatonin, gelöst in 0,05 % wässrigem Ethanol behandelt, die Kontrollen erhielten vom selben Zeitpunkt an 0,05 %iges wässriges Ethanol. Die mediane Überlebenszeit betrug 604 Tage bei den Melatonin-behandelten Tieren und war gegenüber den Kontrollen (571 Tage) signifikant erhöht ($p = 0,042$; Log-rank Test). Im zweiten Experiment wurden im Herbst geborene Tiere ab dem 50. Lebenstag täglich mit 1 mg Melatonin, gelöst in 0,01 % wässrigem Ethanol behandelt; die Kontrollen erhielten vom selben Zeitpunkt an 0,01 %iges wässriges Ethanol. Die mediane Überlebenszeit betrug 780 Tage bei den Melatonin-behandelten Tieren und unterschied sich von den Kontrollen (794 Tage) nicht signifikant.

der zweiten Experimentserie gegenüber jeglicher experimenteller Manipulation, könnte erwogen werden, dass in diesem Fall mit den unterschiedlichen Behandlungen erst ab dem 50. Lebenstag, d. h. postpubertär, und nicht wie in der ersten Serie bereits am 30. Lebenstag, d. h. kurz vor Beginn der Pubertät, begonnen wurde. Allgemein bekannt ist, dass Melatonin bei Nagern Pubertäts-verzögernd wirkt (Sizonenko et al., 1985; Rivest et al., 1986). Es wäre deshalb denkbar, dass frühe Melatonin-Gaben, welche Pubertäts-verzögernd wirken, ebenfalls die Entwicklung spontaner Endometrialcarcinome zu inhibieren vermögen. Basierend auf diesem theoretischen Mechanismus wäre denkbar, dass eine kurzfristige peripubertäre Melatoninbehandlung allein ausreichen könnte, um eine spätere Tumorentwicklung im Erwachsenenalter meßbar zu unterdrücken, was auch für ein erweitertes Verständnis der Ätiologie menschlicher Tumorerkrankungen des Reproduktionstraktes von Bedeutung sein könnte.

Zur Natur möglicher exogener Einflussgrößen, welche das Reaktionsverhalten des Organismus gegenüber dem Krebsgeschehen modulieren:
Saisonalität und Sonnenzyklus

Löscher und Mitarbeiter berichteten, dass die Tumorzinzidenz DMBA-induzierter Mammacarcinome bei Sprague-Dawley Ratten vom saisonalen Zeitpunkt des Beginns der Carcinogen-Gabe abhängt; sie liegt signifikant höher, wenn die Behandlung im Frühjahr/Sommer begonnen wird (Löscher et al., 1997). Ein ähnliches Resultat erzielten wir auch im Verlauf eines analogen Versuchs bei F344-Fischer Inzucht-Ratten (Abb. 6). Da die Initiation DMBA-induzierter Mammacarcinome in direktem Zusammenhang mit der metabolischen Aktivierung dieses Carcinogens durch Cytochrom P450-abhängige Monooxygenasen in der Leber steht, ist davon auszugehen, dass hepatische Enzymaktivitäten bei Labortieren selbst unter photoperiodisch-konstanten Bedingungen saisonalen Schwankungen unterliegen. Gemäß weiterer Untersuchungen von Löscher und Mitarbeitern zeigen Antikonvulsiva, wie z. B. das Phenobarbital, ebenfalls eine saisonale Modulation ihrer Wirksamkeit bei Ratten trotz

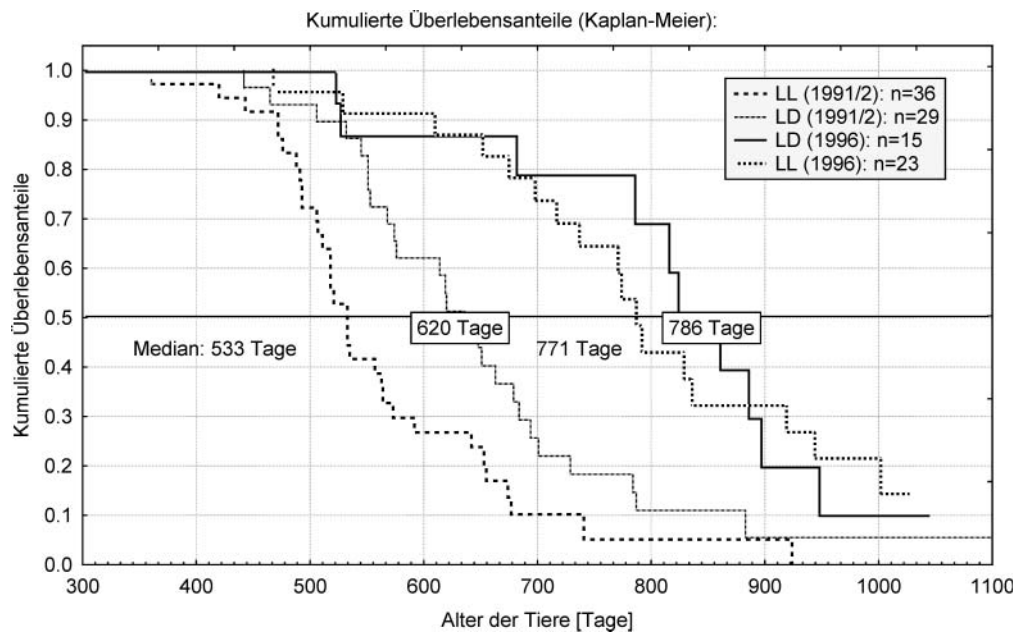


Abb. 5: Wirkung chronischer Dauerlicht-Behandlung auf die Überlebenszeit von virginellen BDII/Han-Ratten mit spontanen Endometrialcarcinomen. Im ersten Experiment wurden im Winter geborene Tiere ab dem 30. Lebenstag mit Dauerlicht (LL) behandelt, die Kontrollen wurden kontinuierlich unter L:D = 12:12 gehalten. Die mittlere Überlebenszeit betrug bei den LL-behandelten Tieren 533 Tage und war gegenüber den Kontrollen (620 Tage) signifikant vermindert ($p = 0,012$; Log-rank Test). Im zweiten Experiment wurden im Sommer geborene Tiere ab dem 50. Lebenstag mit LL behandelt, die Kontrollen wurden kontinuierlich unter L:D = 12:12 gehalten. Die mittlere Überlebenszeit betrug bei den LL-behandelten Tieren 771 Tage und unterschied sich von den Kontrollen (786 Tage) nicht signifikant.

standardisierter Laborbedingungen (Löscher und Fiedler, 1996, 2000), was zumindest teilweise durch unterschiedliche Verstoffwechslungsraten zu unterschiedlichen Jahreszeiten erklärbar ist.

Eine mögliche saisonale Modulation enzymatischer Aktivität in der Leber von Versuchstieren unter standardisierten Haltungsbedingungen hätte eine Reihe tiefgreifender biochemischer und physiologischer Konsequenzen zur Folge, welche den Verlauf experimenteller onkologischer Untersuchungen mit Carcinogenen in komplexer und schwer vorhersehbarer Weise beeinflussen. Aus diesem Grund gingen wir bei späteren Versuchen mit DMBA-induzierten Mammacarcinomen konsequenterweise dazu über, die entsprechenden Experimenterserien jeweils zur gleichen Jahreszeit durchzuführen. Zur Überprüfung der Wirkung chronischer GSM-ähnlicher Mobilfunkbefeldung auf experimentellen Brustkrebs führten wir die Tumorentstehung mit DMBA bei den drei konsekutiven Experimenten sogar jeweils am selben kalendarischen Tag aufeinanderfolgender Jahre durch. Trotz dieser höchstmöglichen Standardisierung ergaben sich jedoch wiederum divergente Resultate: im ersten Versuch (1997/8) beobachteten wir eine statistisch signifikante Verzögerung der Tumorentstehungszeit unter Befeldung, während in den beiden folgenden Versuchen (1998/9 und 1999/2000) keinerlei Wirkung detektierbar war (Bartsch H et al., 2002). Somit ergibt sich der dringende Verdacht, dass neben saisonalen Modulationseffekten of-

fensichtlich noch wesentlich längerfristige Einflüsse auf das Tumorgeschehen existieren, die mehrere Jahre überstreichen. Dies könnte auch erklären, warum wir bei unseren oben erwähnten Versuchsserien bei BDII/Han-Ratten mit spontanen Endometrialcarcinomen in den Jahren 1992 bis 1995 bzw. 1996 bis 1999 sehr unterschiedliche Überlebenszeiten bei den unbehandelten Kontrollen fanden.

Es stellt sich die Frage nach den Mechanismen, welche zu derartig längerfristigen Modulationen des Tumorgeschehens führen könnten. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt können darauf nur theoretische Antworten gegeben werden, welche erst im Verlauf weiterer, über viele Jahre andauernde Experimenterserien überprüfbar wären. Ebenso unklar ist, warum saisonale Effekte auch unter photoperiodisch-kontrollierten Tierversuchslaborbedingungen beobachtbar sind, was als Ausgangspunkt für unsere weiteren hypothetischen Erklärungsansätze genommen sei.

Wiederholt beobachteten wir, dass die nächtliche Melatoninsulfatausscheidung im Urin (als Maß der pinealen Melatoninproduktion) bei gesunden weiblichen Ratten unter kontrollierten Laborbedingungen einen signifikanten Jahresrhythmus mit einem sommerlichen Maximum aufweist (Bartsch H et al., 1994c, 2001b). Ebenso berichteten zuvor McNulty und Mitarb. (1985), dass nächtliches Melatonin in der Zirbeldrüse von Ratten in den Sommermonaten signifikant erhöht war. Ähnliche Beobachtungen machten wir im Verlauf eines Langzeitversuchs zwischen

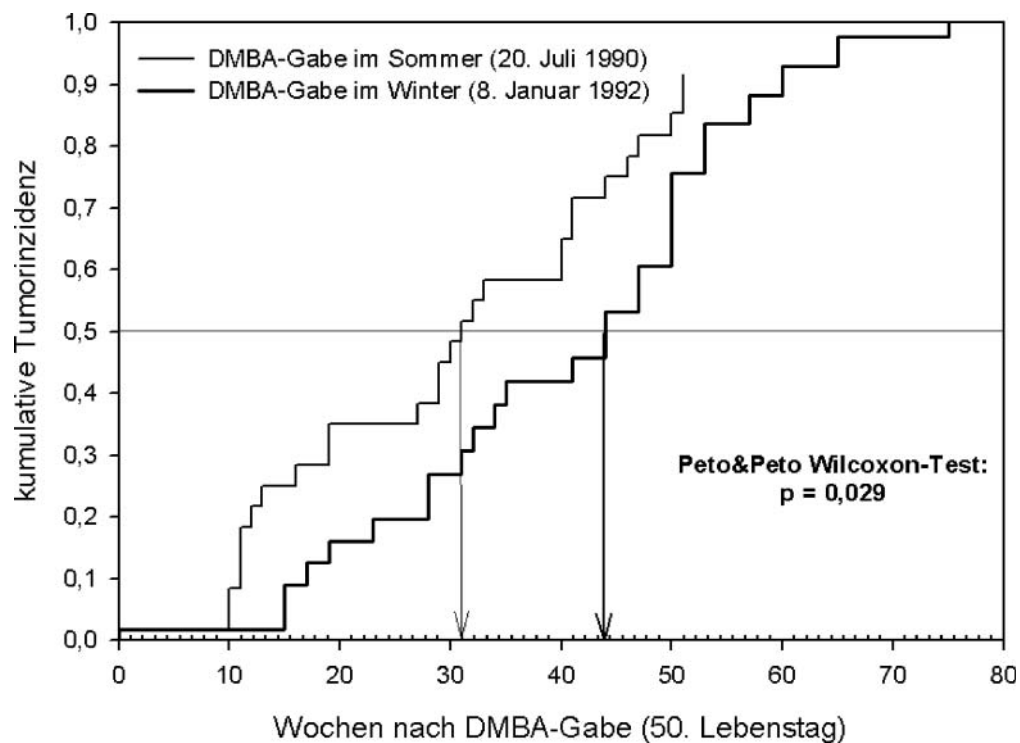


Abb. 6: Wirkung einmaliger intragastraler Applikation von 7,12-Dimethylbenz[a]anthracen (DMBA; 10 mg/100 g Körpergewicht am 50. Lebenstag) auf die Entwicklung von Mammatumoren bei ingezüchteten F344-Fischer Ratten, wobei die DMBA-Gabe entweder im Sommer (Juli 1990) oder im Winter (Januar 1992) erfolgte. Die medianen Tumorlatenzzeiten zur Entwicklung des ersten palpierbaren Tumors der jeweiligen Tiere unterschieden sich gemäß des Wilcoxon Tests signifikant voneinander ($p = 0,029$); sie betragen bei Sommer-Applikation 31 Wochen und bei Winter-Applikation 43,5 Wochen).

1990 und 1992, bei dem monatlich einmal bei 70 Tage alten männlichen Sprague-Dawley Ratten die nächtliche Plasma-Konzentration des Melatonins zum Zeitpunkt seines Sekretionsmaximums untersucht wurde. Dabei wurden im Juli 1990 und 1991 extrem hohe Melatoninwerte gefunden (Abb. 7). Zusammenfassend ist demnach davon auszugehen, dass die Melatoninsekretion unter konstanten Laborbedingungen mit standardisierten Photoperioden trotzdem saisonal moduliert wird.

Aufgrund der Untersuchungen von Semm und Vollrath über den Einfluss experimenteller Veränderungen der Horizontalkomponente H des Erdmagnetfelds auf die Melatoninbildung der Zirbeldrüse von Ratten (Welker et al., 1983) formulierten wir die Hypothese, dass natürliche Schwankungen von H als zusätzlicher Zeitgeber für die circadiane Rhythmik des *Nucleus suprachiasmaticus* (NSC) sowie der daran gekoppelten pinealen Melatoninbiosynthese fungieren könnten (Bartsch H et al., 1994c). H zeigt einen Tagesrhythmus, welcher seinerseits nicht nur saisonal moduliert wird, sondern außerdem noch in Phasen hoher solarer Aktivität innerhalb des etwa elfjährigen Sonnenzyklus stark gestört werden kann. Da das Erdmagnetfeld unter herkömmlichen Bedingungen nur schwer abgeschirmt werden kann und mittlerweile deutlich geworden ist, dass auch bei den Säugetieren ein Magnet Sinn existiert (Olcese et al., 1988; Wiltshko und Wiltshko, 2006) und dadurch physiologische und biochemische

Vorgänge vom Erdmagnetfeld beeinflusst werden (Dubrov 1974; Delyukov et al., 2001), nehmen wir an, dass auf diesem Weg die Abwehrmechanismen des Körpers gegenüber dem Krebsgeschehen unter Beteiligung neuro-immunoendokriner Mechanismen entscheidend verändert werden könnten. Auf diese Weise ließen sich Divergenzen und Nicht-Replizierbarkeiten bei Tumorexperimenten besser verstehen. Ob sich unter Einbeziehung dieser zusätzlichen natürlichen Einflussgröße allerdings eine vollständige Vorhersagbarkeit des Reaktionsverhaltens des Körpers gegenüber malignen Prozessen ergeben wird, ist ungewiss; massive Veränderungen des Erdmagnetfelds erfolgen zwar besonders zu Phasen erhöhter Sonnenaktivität, jedoch ist ihr Auftreten im einzelnen mit den heute vorhandenen physikalischen Nachweismethoden nur schwer vorhersagbar. Darüberhinaus können starke geomagnetische Störungen durchaus auch bei niedriger Sonnenaktivität auftreten, so dass dadurch bei ihrer Vorhersage immer ein hoher Grad an Restungenauigkeit bestehen bleibt. Auf der Grundlage der oben mehrfach erwähnten Beobachtungen bei BDII/Han-Ratten mit spontanen Endometrialcarcinomen könnte jedoch vermutet werden, dass in Phasen ansteigender Sonnenaktivität (wie den Jahren 1996–99) die körpereigenen Abwehrmechanismen gegenüber dem Tumorgeschehen generell verstärkt waren und es dadurch zu einer deutlichen Lebenszeitverlängerung im Vergleich zu den entsprechenden

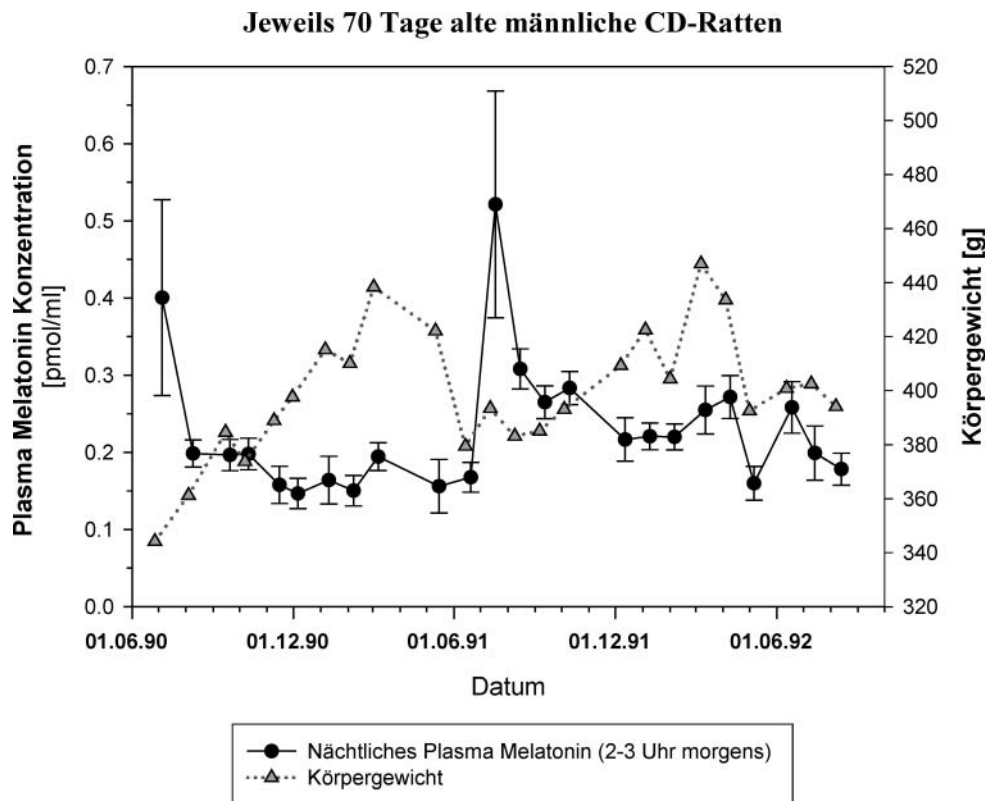


Abb. 7: Mittlere Plasma-Melatonin-Konzentrationen \pm SEM um 2 bis 3 Uhr nachts bei jeweils 70 Tage alten männlichen Ratten ($n = 12$), welche unter L : D = 12 : 12 gehalten wurden, sowie ihr mittleres Körpergewicht 2 bis 3 Tage bevor sie getötet wurden. Die verschiedenen Tiergruppen wurden in monatlichem Abstand zwischen Juni 1990 und September 1992 untersucht.

Kontrollen der Jahre 1992 bis 1995 kam (als sich die Sonnenaktivität ihrem Minimum im Jahr 1996 näherte). Stichhaltige Beweise für diese hypothetischen Zusammenhänge werden nicht einfach zu erbringen sein, da die postulierten Einflüsse der Sonne auf den Körper und dessen Kontrollsysteme über die Rhythmicität des Erdmagnetfelds erfolgen, welches aufgrund seiner Stärke nur unter großem technischen Aufwand adäquat abschirmbar ist. Wahrscheinlich wird es notwendig sein, wiederholte Longitudinalversuche mit ein- und demselben Rattenstamm durchzuführen, wobei es wünschenswert wäre, zumindest zwei Sonnenzyklen, d. h. etwa zwei Dekaden, zu verfolgen.

In vitro-Untersuchungen mit Melatonin

Um das mögliche therapeutische Potential des Melatonins besser definieren und mechanistisch verstehen zu können, ist es notwendig *in vitro*-Experimente durchzuführen, bei denen ausschließlich direkte Wechselwirkungen mit den Zielzellen erfolgen und keine zusätzlichen systemischen modulatorischen Einflüssen wie unter *in vivo*-Bedingungen zu berücksichtigen sind.

Eine Reihe von *in vitro*-Experimenten zeigen, dass Melatonin im Bereich sehr niedriger Konzentrationen, wel-

che den nächtlichen Konzentrationen im Blut vergleichbar sind (0,10–0,50 pmol/ml), Krebszell-hemmend wirken kann. Derartige Beobachtungen wurden bei den menschlichen Brustkrebszelllinien MCF-7 (Danforth et al., 1984; Hill und Blask, 1988; Blask et al., 1997; Ram et al., 1998), T47D sowie ZR75-1 (Blask, 1993) gemacht sowie bei der Prostatacarcinomlinie LNCaP (Lupowitz und Zisapel, 1999; Moretti et al., 2000), ferner bei Primärzellkulturen, abgeleitet von Melanom-Biopsiematerial (Meyskens und Salmon, 1981), sowie einem murinen Prolactinom der Adenohypophyse (Karasek et al., 1988). Bei anderen Zellkulturexperimenten wirkte Melatonin nur in pharmakologischen Konzentrationen hemmend oder zeigte überhaupt keinen onkostatischen Effekt, wie z. B. bei den menschlichen Krebszelllinien HEP-2 (Larynxcarcinom), K562 (Erythroleukämie), EFO-27 (Ovarialcarcinom) sowie EFM-19 (Mammacarcinom) (Bartsch H. et al., 1992; L'Hermite-Baleriaux und de Launoit, 1992; Papazisis et al., 1998).

Der Verlust der Empfindlichkeit einer Krebszelle gegenüber Melatonin scheint gemäß unserer Untersuchungen bei menschlichen Melanomzellen unterschiedlicher Passagen im Zusammenhang mit einer vermehrten Zellteilungsrate als Folge zunehmender Entdifferenzierung zu stehen, denn frühe Passagen waren noch durch pharmakologische Melatonin-Konzentrationen (10^{-6} M)

hemmbar, während spätere Passagen praktisch nicht mehr inhibierbar waren und im millimolaren Bereich sogar stimuliert wurden (Bartsch H. et al., 1986). Auch im Fall der potentiell gegenüber Melatonin sehr empfindlichen Mammacarcinomzelllinie MCF-7 war in unseren Händen kein klarer anti-proliferativer Effekt nachweisbar (Bartsch H. et al., 1992), was in anderen Labors bestätigt werden konnte und deshalb davon auszugehen ist, dass sich die Empfindlichkeit gegenüber Melatonin auf bestimmte Subklone dieser Zelllinie beschränkt (Ram et al., 2000; Cos und Sanchez-Barcelo, 2001). Die naheliegende Frage ist, warum manche Subklone ein und derselben Zelllinie Melatonin-empfindlich sind und andere nicht.

MCF-7 Zellen sind Östrogen- und Prolactin-empfindlich, weshalb ihre Proliferationsrate unter grundlegender Kontrolle dieser beiden Hormone steht. Im Fall einer Proliferationshemmung dieser Zellen durch Melatonin ist deshalb zunächst von einer Wechselwirkung des Zirbeldrüsenhormons mit den zellulären Mechanismen zur hormonell gesteuerten Proliferationsstimulation auszugehen. Gemäß der Untersuchungen von Girgert et al. (2003) erscheint dabei einer Interaktion von Melatonin mit den Östrogenrezeptoren vom Typ α von besonderer Bedeutung zu sein. Neben dieser eher indirekten Wirkung des Melatonins auf zellulärer Ebene ist der Gehalt an Melatoninrezeptoren essentiell. Anfänglich wurde vermutet, dass die Konzentration des membranständigen Melatoninrezeptors MT1 in MCF-7 Zellen (Dillon et al., 2002; Ram et al., 2002) ausschlaggebend für die Ansprechbarkeit gegenüber dem Zirbeldrüsenhormon sein würde, jedoch weisen jüngere Untersuchungen darauf hin, dass der Gehalt an nukleären Rezeptoren vom ROR α /RZR α -Typ weit wichtiger ist (Dai et al., 2001; Girgert et al., 2003).

Obwohl ein Großteil der beteiligten zellulären Mechanismen zur direkten Proliferationshemmung durch Melatonin sicherlich noch im Dunklen liegt, kristallisiert sich wie bei den zuvor besprochenen *in vivo*-Untersuchungen als allgemeines Prinzip heraus, dass relativ hochdifferenzierte Krebszellen mit niedriger Proliferationsrate durch Melatonin gut hemmbar sein können, während undifferenzierte Tumorzellen ein schwer vorhersagbares Reaktionsverhalten zeigen (Bartsch H. et al., 1986; Kanishi et al., 2000). Nicht verschwiegen werden darf, dass es auch Berichte darüber gibt, dass die Proliferation einer Reihe von Zelllinien durch Melatonin gefördert wird. Dies gilt für die Brustkrebszelllinie MDA-MB-231, einige Melanomzellen (Blask, 1993) sowie auch Primärzellkulturen, abgeleitet von menschlichem Ovarial- bzw. Mammacarcinom-Biopsiematerial (Bartsch H. et al., 2000). Die daran beteiligten Mechanismen sind unverständlich, jedoch sind derartige paradoxe Effekte im Bereich der experimentellen Onkologie nicht unbekannt; manche Östrogen-abhängigen MCF-7 Sublinien reagieren auf das Anti-Östrogen Tamoxifen mit einer gesteigerten Zellteilungsrate (Pink und Jordan, 1996). Prinzipiell muss

es sich dabei um Mutations-bedingte Veränderungen innerhalb der Signaltransduktionskaskaden handeln, so dass ein normalerweise inhibitorisches extrazelluläres Signal intrazellulär in entgegengesetzter Richtung interpretiert wird. Interessant und wichtig wäre zu klären, ob und auf welche genaue Weise die besagte paradoxe Wirkung des Melatonins auf Krebszellen an das Vorhandensein von Melatoninrezeptoren gekoppelt ist, wobei neben dem membranständigen MT1- und den nukleären ROR α /RZR α - auch an den zuletzt entdeckten MT3-Rezeptor (Chinonreduktase-Typ 2; Nosjean et al., 2001) zu denken ist, um unerwünschte Wirkungen des Melatonins auf das Krebswachstum im Verlauf klinisch-experimenteller Therapieversuche zu vermeiden.

***In vitro-Studien mit Zirbeldrüsenextrakten
weisen auf die Existenz potenter niedermolekularer
Anti-Tumorsubstanzen unbekannter Struktur hin***

Bei den Untersuchungen von Shah und Mitarb. (1984) zur Wirkung des Melatonins auf die Inzidenz DMBA-induzierter Mammacarcinome bei weiblichen Ratten zeigte sich, dass die nach chirurgischer Pinealektomie deutlich erhöhte Tumorzinzenz durch Melatoningabe nicht vollständig kompensierbar war. Dies bedeutet, dass die tumorhemmende Wirkung der Zirbeldrüse wahrscheinlich nicht allein auf der Sekretion des Melatonins beruht, sondern daran noch andere anti-neoplastische Substanzen beteiligt sind. Diese Annahme wird durch die Berichte der Gruppe um Dilman (1979) in Sankt Petersburg zur Hemmwirkung des Zirbeldrüsenextrakts Epithalamin[®] (welcher in nur sehr geringen Maß Melatonin enthält; Bartsch, unveröffentlichte Resultate) auf ein sehr breites Spektrum von *in vivo*-Tumoren gestützt. In den 70er Jahren berichteten ebenfalls Lapin und Ebels (1976), dass niedermolekulare wässrige Melatonin-freie Extrakte aus Schafszirbeldrüsen auf experimentelle Tumore bei Ratten und Mäusen hemmend wirkten. In den 80er Jahren beobachteten wir zusammen mit der Arbeitsgruppe von I. Ebels in Utrecht, dass derartige Extrakte aus Schafszirbeldrüsen eine Reihe von Zelllinien deutlich zu hemmen vermögen, welche durch Melatonin nicht oder nur in geringem Maß beeinflussbar waren (Bartsch H. et al., 1987a, 1992; Bartsch H., 1988; Bartsch H. und Bartsch C., 1988; Ebels et al., 1988). Wir bezeichneten die unbekannt Substanzen als sog. Pineale Anti-Tumoraktivität (PATA), welche in zwei niedermolekularen Ultramembranfiltrationsfraktionen im Bereich von 500–1.000 Da (sog. UM05R: Noteborn et al., 1988; Maidonis et al., 1993; Maidonis, 1996) sowie 1.000–10.000 Da (sog. YM1R: Noteborn et al., 1989) enthalten sind. Die Existenz von PATA konnte in den 90er Jahren durch die Doktorarbeit von I. Maidonis (1996) in unserer Arbeitsgruppe in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. E. Bayer (Organisch-chemisches Institut, Tübingen) bestätigt werden, ebenso

durch ein darauffolgendes DFG-Projekt von Prof. Dr. L. Vollrath (Anatomisches Institut, Mainz), in dem wir beide arbeiteten. Trotz größter Anstrengungen und unter Verwendung modernster chemischer Trennverfahren gelang uns bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt die Strukturklärung dieser Aktivität nicht. Wir sind überzeugt, dass die ermutigenden Resultate bei den frühen klinischen Therapieversuchen mit Zirbeldrüsenextrakten, hauptsächlich von Hofstätter (1959) durchgeführt, wahrscheinlich primär auf die Gegenwart von PATA zurückzuführen ist, da deren anti-proliferative Wirkung sich auf ein breites Spektrum von Zelllinien erstreckt, welche gegenüber Melatonin refraktär sind. Die Wirkungsweise von PATA erklärt sich durch eine Blockade des Zellzyklus in der G₁-Phase (Bartsch H., 1988). Darüber hinaus besitzen die anti-neoplastischen Substanzen der Zirbeldrüse gemäß Catrina et al. (1999) pro-apoptotische sowie cytotoxische Wirkungen; letzteres wurde auch von Bindoni et al. (1976) gefunden.

Bedeutend erscheint, dass PATA durch die Zirbeldrüse sekretiert wird und Melatonin an der Steuerung dieser Substanz(en) wahrscheinlich funktionell beteiligt ist, denn durch abendliche Melatonin-Injektionen wurde der Gehalt von PATA im Pinealorgan von Ratten abgesenkt (Bartsch H. et al., 1987b). Zudem detektierten wir einen 24-Stundenrhythmus von PATA in der Zirbeldrüse mit Maximalwerten um Mitternacht, welche dann aber zum Zeitpunkt des Melatonin-Maximums um 3 Uhr morgens, möglicherweise aufgrund erhöhter Sekretion, drastisch abfielen (Bartsch H. et al., 1987b). PATA zeigt bei Ratten unter photoperiodisch konstanten Laborbedingungen außerdem einen ausgeprägten saisonalen Rhythmus mit sehr hohen Werten während des Sommers und kaum nachweisbarer Aktivität im Winter (Bartsch H. et al., 1990a,b, 1991; Bartsch H. und Bartsch C., 1993). In diesem Zusammenhang erwähnenswert ist, dass in damaligen Paralleluntersuchungen eine deutlich höhere circadiane Amplitude des Plasma-Melatonins bei Ratten im Sommer als im Winter zu finden war (Bartsch H., 1988), was in Übereinstimmung mit dem oben schon erwähnten Resultat zur saisonalen Rhythmik nächtlicher Melatonin-Produktion bei weiblichen Ratten unter konstanten Laborbedingungen steht, wobei ebenfalls ein sommerliches Maximum detektiert wurde (Bartsch H. et al., 1993, 1994c). Dies unterstützt die Vermutung, dass Melatonin an der saisonalen Regulation von PATA funktionell beteiligt sein könnte. Es ist denkbar, dass es sich bei PATA um den Repräsentanten einer Klasse endogener anti-neoplastischer Substanzen handelt, die in verschiedenen gesunden Geweben produziert werden (Bardos et al., 1968) und wesentlicher Bestandteil endogener Krebsabwehr sind. Gestützt wird diese Annahme durch eigene Beobachtungen während unserer Forschungstätigkeit am All-India Institute of Medical Sciences, Neu-Delhi, Indien (1975–1980), in deren Verlauf wir im Urin gesunder Menschen eine tumorhemmende Aktivität auf verschiede-

ne *in vivo*-Tumore bei Ratten und Mäusen fanden, welche analog zu PATA praktisch nur im Sommer detektierbar war (Bartsch H. et al., 1991; Bartsch H. und Bartsch C., 1993).

Melatonin als endogenes Anti-Carcinogen

Die oben dargestellten Resultate verdeutlichen, dass Melatonin im Gegensatz zu PATA keine generelle anti-proliferative Wirkung besitzt und Krebszellwachstum primär in frühen Stadien zu beeinflussen vermag. Darüber hinaus verdichten sich Hinweise darauf, dass Melatonin direkt in carcinogenetische Vorgänge einzugreifen vermag.

Zunächst beobachteten wir, dass es nach Verabreichung des Mammacarcinogens DMBA bei Ratten zu einer Verminderung der nächtlichen Melatonin-Konzentration im Plasma kam (Bartsch C. et al., 1990c), was von De Jonge-Canonica et al. (2003) bestätigt wurde. Im Verlauf unserer Folgeuntersuchungen stellte sich heraus, dass die Verminderung zirkulierenden Melatonins durch eine Induktion hepatischer mikrosomaler Monooxygenasen nach DMBA-Gabe erfolgt, welche das Melatonin im Rahmen einer Phase-I Reaktion zum 6-Hydroxymelatonin umformen, bevor letzteres zum 6-Sulfatoxymelatonin (aMT6s) sulfatiert und in dieser Form renal eliminiert wird (Kopin et al., 1961; Jones et al., 1969). An dieser Phase-I Reaktion in der Leber ist primär das P450-Isoenzym CYP1A2 (Praast et al., 1995; Facciola et al., 2001; Skene et al., 2001; Ma et al., 2005) beteiligt, extra-hepatisch zudem noch CYP1B1. Bekannt ist, dass DMBA ebenfalls über CYP1A2 hydroxyliert und auf diese Weise metabolisch aktiviert wird, so dass es danach in der Form eines Epoxid-Derivats als Carcinogen DNA-schädigend wirken kann. Somit erfolgt eine Konkurrenz zwischen Melatonin und DMBA um dasselbe hepatische Isoenzym, was als molekulare Grundlage für die antagonistische Wechselwirkung beider Substanzen im Verlauf des Krebsinitiationsprozesses gelten kann (Kothari und Subramaniam, 1992) und erklärt, warum das Zirbeldrüsenhormon, die metabolische Aktivierung von DMBA und somit dessen carcinogenes Potenzial zu begrenzen vermag (Subramaniam und Kothari, 1991a). Aufgrund dieser Wechselwirkung ist auch verständlich, warum es umgekehrt bei Suppression bzw. Ausschaltung der Melatonin-Sekretion, z. B. durch nächtliches Licht bzw. chirurgische Pinealektomie, zu einer verstärkten metabolischen Aktivierung von DMBA, verbunden mit einer vermehrten Krebsinitiation kommt.

Aufgrund dieser Zusammenhänge ist denkbar, dass Melatonin eine protektive Rolle bei der Entstehung bestimmter menschlicher Krebsarten, wie z. B. des Bronchialcarcinoms bei Rauchern, spielt, da die im Zigarettenrauch enthaltenen polyaromatischen Kohlenwasserstoffe mit dem DMBA chemisch eng verwandt sind. Weiterhin besitzt Melatonin wahrscheinlich eine Schutzwirkung ge-

genüber der Krebs-auslösenden Wirkung ionisierender Strahlen (Vijayalaxmi et al., 2004). Mechanistisch erklärt sich die Radioprotektion des Melatonins aufgrund seiner gut dokumentierten anti-radikalischen Wirkung (Reiter, 2001), wobei das Melatonin-Molekül einerseits selbst als Radikalfänger fungiert und es andererseits anti-oxidativ wirksame Enzyme (z. B. Katalase, Superoxid-dismutase, Glutathion-peroxidase) stimuliert sowie pro-oxidative Enzyme (z. B. die NO-Synthase) in ihrer Aktivität hemmt. Auf diese Weise kann Melatonin auf verschiedene Weise der Bildung hochreaktiver und mutagener Radikale effektiv entgegenwirken. Es ist anzunehmen, dass darüber hinaus die Zirbeldrüse über ihr Haupthormon Melatonin noch in eine Reihe unbekannter carcinogenetischer Prozesse einzugreifen vermag, welche im Zusammenhang mit dem Lebensstil in westlichen Industriegesellschaften stehen, z. B. Ernährungsgewohnheiten sowie Veränderungen im natürlichen Tagesrhythmus (Bartsch C. und Bartsch H., 2006), was Inhalt der folgenden Diskussion sein soll.

Der Stellenwert des Melatonins im menschlichen Krebsgeschehen

Epidemiologische Hinweise zur Bedeutung des Melatonins für die Ätiologie menschlicher Krebserkrankungen

In den letzten Jahren wurde eine Reihe epidemiologischer Studien veröffentlicht, die darauf hinweisen, dass Lebensgewohnheiten, welche zu einer Störung der Melatonin-Tagesrhythmik führen, mit einem erhöhten Krebsrisiko verbunden sind. Zu Störungen der Melatoninrhythmik kann es prinzipiell auf zwei Weisen kommen: entweder ist der nächtliche Sekretionsschub unterdrückt, wodurch es zu einer Verminderung der circadianen Amplitude kommt, oder es erfolgt eine Acrophasen-Verschiebung, bei welcher der Zeitpunkt der nächtlichen Maximalsekretion verschoben ist. Nächtliches Licht führt zu einer Intensitäts-abhängigen Suppression der Amplitude der Melatonin-Sekretion (Brainard et al., 1988), welche normalerweise mit *keiner* Acrophasen-Veränderung verbunden ist, da trotz vorübergehendem nächtlichen Lichts eine prinzipielle Synchronisation an einen bestimmten Licht-Dunkel-Rhythmus fortbestehen bleibt. In der modernen Arbeitswelt ist nächtliches Licht jedoch oft mit tiefen Acrophasen-Verschiebungen verbunden, wie z. B. bei Nachtschicht- bzw. nächtlicher Wechselschichtarbeit, wo ein verändertes Aktivitätsmuster am selben geographischen Ort erfolgt. Zu Acrophasen-Verschiebungen kommt es auch im Verlauf von Transkontinentalflügen, in deren Verlauf ein abrupter Zeitzonewechsel vollzogen wird.

Zuerst berichteten Davis und Mitarb. (2001), dass chronische Nachtschichtarbeit mit einem erhöhten Brustkrebsrisiko verbunden ist. In jüngster Zeit gewannen auch

Schernhammer und Mitarb. (2001, 2006) epidemiologische Hinweise dafür, dass über längere Zeit ausgeübte nächtliche Wechselschichten mit einem gesteigerten Brustkrebsrisiko verbunden sind. Derartige Wechselschichten führen (wenn sie über einen Zeitraum von 15 Jahren andauern) bei Frauen ebenfalls zu einem erhöhtem Risiko, an colorektalem Carcinom zu erkranken (Schernhammer et al., 2003), wobei es auszureichen scheint, wenn nur dreimal monatlich nachts gearbeitet wird. Weiterhin berichtete kürzlich eine japanische Arbeitsgruppe, dass nächtliche Wechselschichten bei Männern zu einem statistisch signifikant erhöhten Risiko führen, Prostatacarcinome zu entwickeln (Kubo et al., 2006).

Zur mechanistischen Erklärung dieser epidemiologischen Befunde wird von verschiedenen Autoren angenommen, dass der Suppression der nächtlichen Melatonin-Sekretion durch Licht eine zentrale Bedeutung zukommt (Davis et al., 2001; Stevens, 2002; Schernhammer und Schulmeister, 2004). Diese zunächst eher hypothetische Annahme wird durch zwei neuere experimentelle Untersuchungen ganz wesentlich gestützt. Zunächst berichteten Schernhammer et al. (2004) über eine inverse Korrelation zwischen der Menge der nächtlichen Melatonsulfat-Ausscheidung (als Maß der Melatonin-Produktion) und der Anzahl an Nachtschichten, welche während der letzten zwei Wochen vor der Urinprobensammlung ausgeführt wurden. Weiterhin zeigte die Gruppe um D.E. Blask (2005), dass Blut von Frauen, welche in der Nacht starkem Licht ausgesetzt waren und somit drastisch reduziertes Melatonin aufweist, nicht in der Lage ist, xenotransplantierte menschliche Krebszellen zu hemmen – im Gegensatz zu Melatonin-reichem Blut von Probandinnen ohne nächtliches Licht. Die Hypothese einer zentralen Bedeutung chronischer Melatonin-Suppression durch Licht für die Ätiologie bestimmter Krebserkrankungen wird außerdem indirekt durch epidemiologische Befunde bei Blinden gestützt, welche ein generell vermindertes Krebsrisiko besitzen (Feychting et al., 1998), das invers mit dem Grad der visuellen Störung korreliert ist (Verkasalo et al., 1999).

In neuester Zeit verdichten sich epidemiologische Hinweise darauf, dass auch das Flugpersonal ein erhöhtes Krebsrisiko besitzt, wobei gemäß des Übersichtsartikels von Sigurdson und Ron (2004) Stewardessen häufiger an Brustkrebs erkranken und Piloten vermehrt unter Melanomen leiden. Es wird vermutet, dass in beiden Fällen eine langjährige Belastung durch *jet lag* und die damit unvermeidbar verbundene Störung der circadianen Melatonin-Rhythmik von zentraler funktioneller Bedeutung ist. Als eigentliche kausale Ursache zur Entwicklung von Melanomen bei Piloten ist ein mangelnder Schutz im Cockpit gegenüber der in großen Höhen sehr intensiven UV-Strahlung anzunehmen. Für das markant erhöhte Brustkrebsrisiko der Stewardessen könnte eine Beteiligung kosmischer Strahlung erwogen werden, welche aufgrund ihrer ionisierenden Wirkung bekanntermaßen krebsaus-

lösend ist (Lim, 2002). Weiterhin ist von einer möglichen Beteiligung solarer Strahlung auszugehen, besonders in Phasen sehr hoher Sonnenaktivität innerhalb ihres elfjährigen Zyklus, denn Modellrechnungen ergaben, dass nach sehr starken Sonneneruptionen eine Strahlenbelastung von bis zu 1 mSv/Std. in 20 km Höhe zu verzeichnen sein dürfte (Lim, 2002), womit bereits die für die Normalbevölkerung erlaubte Jahresdosis in Deutschland erreicht wäre. Dies bedeutet, dass das Flugpersonal und die zu diesem Zeitpunkt Reisenden auch bei normalen Flughöhen im Bereich von 10 bis 12 km Höhe einer substantiellen Belastung mutagener Strahlung ausgesetzt sind. Aufgrund der radioprotektiven Wirkung des Melatonins (Vijayalaxmi et al., 2004) ist gut vorstellbar, dass das Flugpersonal bei einer chronischen Störung seiner Melatonin-Tagesrhythmik einen verminderten Schutz gegenüber der mutagenen Strahlung kosmischen sowie solaren Ursprungs besitzt. Die experimentellen Resultate von Filipinski et al. (2004) weisen zudem darauf hin, dass chronischer *jet lag* zur Wachstumsstimulation der durch die mutagene Strahlung erzeugten Tumoren führen dürfte; welchen unmittelbaren Anteil die gestörte Melatonin-Rhythmik daran jedoch hat, ist gegenwärtig noch unklar. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass *jet lag* sowohl die Initiation als auch die Promotion von Krebs zu erleichtern vermag, womit die epidemiologischen Daten zum erhöhten Krebsrisiko des Flugpersonals mechanistisch verständlich erscheinen.

Die aus arbeitsmedizinischer Sicht relevante Frage ist, wie das erhöhte Krebsrisiko des Flugpersonals entscheidend gesenkt werden kann. Theoretisch könnte dafür aus verschiedenerlei Gründen eine präventive Behandlung mit Melatonin erwogen werden, denn das Zirbeldrüsenhormon besitzt anti-carcinogene und radioprotektive Eigenschaften, vermag das Wachstum früher Tumorstadien zu hemmen und besitzt zudem gut dokumentierte generelle *jet lag*-mindernde Wirkungen (Herxheimer und Petrie, 2002).

Die Bedeutung des Melatonins für die Entstehung menschlichen Krebses beschränkt sich wahrscheinlich jedoch keineswegs nur auf die beschriebenen Situationen der langjährigen Nachtschichtarbeit sowie des chronischen *jet lag*, sondern erstreckt sich wahrscheinlich aufgrund der generell inhibitorischen Wirkung des Lichts auf die sekretorische Aktivität der Zirbeldrüse auf weite Bereiche des modernen Lebens in industrialisierten Gesellschaften, wo Kunstlicht im inner- und außerhäußlichen Bereich zu praktisch jeder Tages- und Nachtzeit frei und uneingeschränkt verfügbar ist. Kerenyi et al. (1990) wiesen auf die möglichen gesundheitlichen Gefahren einer chronischen Kunstlicht-Exposition hin und prägten den Begriff der *light pollution*. Sie stellten die Hypothese auf, dass das stetig ansteigende Krebsrisiko, welches seit dem Ende des 19. Jh. zu verzeichnen ist, in direktem Zusammenhang mit einer zunehmenden nächtlichen Kunstlichtexposition im Verlauf der Industrialisierung steht,

wodurch wahrscheinlich nicht nur die nächtliche Melatonin-Sekretion (Vollrath, 2001), sondern eine Fülle rhythmischer Prozesse innerhalb des neuroimmunoendokrinen Netzwerkes (Cardinali et al., 2001; Maestroni, 2001) negativ beeinflusst werden und die Homöostase negativ beeinträchtigt wird.

Sollten sich die bisherigen wissenschaftlichen Hinweise auf eine derartig enge Verflechtung zwischen Kunstlichtexposition und vermehrtem Krebsrisiko weiter verdichten, ergäbe sich daraus zwangsläufig die Frage, welche Konsequenzen daraus zu ziehen wären. Müsste unser heutiger Lebensstil verändert werden? Dabei steht eine Rückkehr zu den Lebensgewohnheiten vor-industrieller Zeiten, welche primär vom natürlichen Tag-Nacht-Rhythmus geprägt waren, außerhalb jeglicher Erwägung, da dies schlichtweg die Negation des modernen Lebens sowie der damit verbundenen Freiheiten bedeutete. Das Ziel sollte eher sein zu analysieren, auf welche Art und Weise die gravierendsten negativen Effekte auf das Melatonin sowie andere circadiane Prozesse begrenzt und eine adäquate Abwehr gegenüber malignen Prozessen aufrechterhalten bleiben kann. Dazu wird es erforderlich sein, umfangreiche chronobiologisch-orientierte Untersuchungen auf den verschiedensten Ebenen zu initiieren. Ein erster und sehr praktischer präventiver Ansatz könnte die Verwendung von Brillen mit speziellen Blaulichtfiltern sein, welche unter nächtlichem Kunstlicht zu tragen wären, um eine nächtliche Suppression des Melatonins über das Melanopsin der retinalen Ganglienzellen (mit einem Absorptionsmaximum im Bereich von 446–483 nm; Lockley et al., 2003) zu verhindern (Sasseville et al., 2006). Aufgrund der engen spektralen Bandbreite der Lichtabsorption des Melanopsins würde es sich weiterhin anbieten, zur nächtlichen Beleuchtung generell Lampen mit langwelligeren Spektraleigenschaften zu verwenden bzw. Blaulichtfilter auf den vorhandenen Beleuchtungskörpern zu installieren, um die nächtliche Melatonin-Sekretion möglichst wenig zu stören.

Analytische Untersuchungen zur Bedeutung des Melatonins im Krebsgeschehen

Die beschriebenen Zusammenhänge lassen erkennen, dass eine chronische Suppression des Melatonins durch die in der westlichen Welt vorherrschenden Lebensformen eine möglicherweise zentrale Rolle für die zunehmende Entstehung maligner Tumore in der heutigen Zeit hat (Greenberg, 1983; Bartsch C. und Bartsch H., 2006). Zu Beginn unserer Arbeiten über den Zusammenhang zwischen dem Pinealorgan und Krebs in den 70er Jahren wagten wir nicht, an derartig grundlegende Mechanismen zu denken und waren darauf fixiert herauszufinden, inwiefern es bei Patienten durch die Krebsentstehung zu Veränderungen des Melatonins sowie anderer im Blut zirkulierender hormoneller Parameter kommt, um daraus

eventuell neue therapeutische Ansätze vorschlagen bzw. sogar entwickeln zu können.

Klinische Studien

Erste Untersuchungen wurden von uns 1977 bei einer etwa 30-jährigen unoperierten Mammacarcinom- und einer älteren Gallenblasencarcinom-Patientin sowie zwei jüngeren gesunden Frauen im Alter von 25 und 30 Jahren durchgeführt (Bartsch C., 1979; Bartsch C. und Bartsch H., 1988). Die Exkretion des Melatonins im Urin wurde gemäß Levine und Riceberg (1975) radioimmunologisch in Tag- (6 bis 18 Uhr) sowie in Nachtproben (18 bis 6 Uhr) bestimmt. Während bei den Kontrollen sich ein klarer nächtlicher Anstieg des Melatonins zeigte, war bei den Krebspatientinnen im Vergleich zum Tag keine erhöhte nächtliche Melatonin-Ausscheidung zu finden.

Tumore des reproduktiven Systems

1. Mammacarcinom

Ermutigt durch das Resultat unserer ersten Untersuchungen, führten wir im Winter 1979/80 zusammen mit L. Wetterberg vom Karolinska Institut für Psychiatrie in Stockholm eine erste systematische Brustkrebsstudie durch, in deren Verlauf Urinproben in Neu-Delhi, Indien, am All-India Institute of Medical Sciences sowie im benachbarten Safdarjang-Hospital bei neun unbehandelten Brustkrebspatientinnen, einer Patientin mit einem Lokalrecidiv der Mamma sowie bei 9 Kontrollen, die meist an einem fortgeschrittenen uterovaginalen Prolaps litten, gesammelt wurden. Alle Patientinnen waren unoperiert und erhielten keine medikamentöse Therapie. Bei Patientinnen mit primärem Mammacarcinom handelte es sich um jeweils eine Frau mit den Stadien I, II und IV, meist lag jedoch das fortgeschrittene Stadium III ($n = 6$) vor. Um mögliche Einflüsse durch den Menstrualzyklus zu vermeiden, wurden ausschließlich postmenopausale Patientinnen untersucht. Urin wurde über zwei bis drei Tage in verschiedenen Zeitintervallen gesammelt, während des Tages in vierstündigen Abständen und über acht Stunden in der Nacht (22–6 Uhr). Neben dem Melatonin im Urin wurden im Blut aus Proben, die morgens zwischen 10 und 11 Uhr gesammelt wurden, Cortisol, LH, FSH sowie Prolactin radioimmunologisch bestimmt. Neben einer eingehenden histopathologischen Untersuchung wurden im Tumorgewebe cytosolische sowie nukleäre Östrogen- und Progesteron-Rezeptoren bestimmt. Als Resultat ergab sich eine 31%ige Verminderung der 24-Stunden Exkretion des Melatonins bei den Brustkrebspatientinnen im Vergleich zu den Kontrollen, und außerdem erfolgte eine Acrophasenverschiebung, wobei nachts (22–6 Uhr) sowie auch nachmittags Melatonin um etwa 50% vermindert

war, während morgens (7–11 Uhr) eine etwa 40%ige Erhöhung zu beobachten war (Bartsch C. et al., 1981). Parallel dazu wurde ein leichter Anstieg des morgendlichen Cortisols (+33%) sowie Prolactins (+14%) beobachtet (Bartsch C. et al., 1981). Wir vermuteten deshalb, dass parallel zur Verminderung der nächtlichen Melatonin-Sekretion bei Brustkrebspatientinnen andere endokrine Ungleichgewichte auftreten.

Kurz nach Veröffentlichung unserer obigen Studie berichteten Tamarkin et al. (1982) über ihre Untersuchungsergebnisse zur Tag-/Nachtrhythmik des Plasma-Melatonins bei unoperierten Brustkrebspatientinnen mit den frühen klinischen Stadien I und II. Von den insgesamt 20 untersuchten Patientinnen zeigten zehn Östrogenrezeptorpositive Tumore. Bei ihnen fand sich eine signifikant erniedrigte nächtliche Plasma-Melatonin-Konzentration, während die anderen Patientinnen mit Östrogenrezeptornegativen Tumoren keinerlei Veränderungen zeigten, was im Verlauf einer Folgestudie dieser Arbeitsgruppe bestätigt werden konnte (Danforth et al., 1985).

In den 80er Jahren führten wir an der Abteilung für Diagnostische Endokrinologie der Universitäts-Kinderklinik in Tübingen in Zusammenarbeit mit den Universitäts-Frauenkliniken in Tübingen und Bonn eine weitere Studie durch, in welcher der 24-Stundenrhythmus der Melatonin-Konzentration im Serum von 23 unoperierten Brustkrebspatientinnen sowie von 12 weiteren Patientinnen mit Recidiven untersucht wurde. Als Kontrollen dienten Frauen mit verschiedenen gutartigen Erkrankungen der Mamma (Fibroadenome sowie Mastopathien) (Bartsch C. et al., 1989). Da einige der Frauen zusätzliche Erkrankungen aufwiesen und auch medikamentös behandelt wurden, erfolgte die Datenanalyse auf zwei verschiedene Arten. Dabei wurden zunächst alle Patientinnen einbezogen, woraus sich das sog. „klinische Mittel“ ergab. Anschließend bildeten wir sog. „Zentralgruppen“, bei denen es sich um jene Teilnehmerinnen der Studie handelte, welche unbehandelt waren und keine sonstigen Erkrankungen aufwiesen, außer den besagten gutartigen sowie bösartigen Erkrankungen der Mamma. Als Hauptresultat ergab sich, dass die zwölf Patientinnen der Zentralgruppe mit Primärtumoren der Mamma eine um 67% signifikant verminderte Amplitude des Melatonins im Vergleich zu den acht altersgleichen Kontrollen mit gutartigen Mammaerkrankungen zeigten, was sich auch bei der Analyse der 23 Brustkrebspatientinnen des klinischen Durchschnitts im Vergleich zu den 15 Kontrollen bestätigte (53%ige Amplitudenabnahme). Im Verlauf der weiteren Analyse wurden die Brustkrebspatientinnen in drei Untergruppen, entsprechend der Größe ihres Primärtumors, unterteilt (T_1 : Durchmesser < 2 cm; T_2 : > 2 cm aber < 5 cm; T_3 : > 5 cm). Dabei zeigte sich eine fortschreitende Abnahme der nächtlichen Maximalwerte der Melatonin-Konzentration parallel zur Zunahme der Größe des Primärtumors im Vergleich zu altersgleichen Kontrollen: -27% zum Tumorstadium T_1 , -53% bei T_2 und -73%

bei T_3 (Abb. 8; Bartsch C. et al., 1989). Interessanterweise beobachteten wir bei Patientinnen mit Lokalrezidiven, welche sich nach der chirurgischen Entfernung des Primärtumors entwickelt hatten, keinerlei Veränderungen des nächtlichen Melatonins gegenüber den Kontrollen. Diese Resultate deuten darauf hin, dass die Sekretion des Melatonins bei Brustkrebs-Patientinnen nicht irreversibel gestört ist, sondern es im Verlauf des Primärtumorwachstums zu einer vorübergehenden Reduktion des zirkulierenden Melatonins kommt. Ob es sich dabei um eine Sekretionshemmung oder aber um eine erhöhte Metabolisierung bzw. vermehrten Verbrauch durch den Tumor handelt, war unklar. Zum besseren Verständnis der beteiligten Mechanismen bestimmten wir deshalb bei den Patientinnen zusätzlich noch die Serum-Konzentrationen des peripheren Hauptmetaboliten des Melatonins, des 6-Sulfatoxymelatonins (aMT6s). Es zeigten sich parallele Tagesverläufe von Melatonin und aMT6s bei allen untersuchten Gruppen, einschließlich der Patientinnen mit unoperierten Primärtumoren (Bartsch C. et al., 1991). Dies wurde als klarer Hinweis dafür gewertet, dass die Amplitudenverminderung des zirkulierenden Melatonins nicht auf eine gesteigerte Metabolisierungsrate in der Leber zu-

rückzuführen war, sondern entweder die Sekretion durch die Zirbeldrüse vermindert oder der Verbrauch durch den Tumor gesteigert war. Als praktische Konsequenz aus den Resultaten konnte nunmehr dazu übergegangen werden, das Melatonin nicht-invasiv über die Ausscheidung des aMT6s im Urin zu estimieren.

Im Verlauf einer größeren Folgestudie, welche in den 90er Jahren von uns im Rahmen eines DFG-Projekts an der Universitäts-Frauenklinik, u. a. in Zusammenarbeit mit Frau Prof. Peiker von der Jenaer Universitäts-Frauenklinik, durchgeführt wurde, analysierten wir die nächtliche aMT6s-Ausscheidung (23–7 Uhr) bei unoperierten Brustkrebspatientinnen sowie Kontrollen mit verschiedenen gutartigen gynäkologischen Erkrankungen (Bartsch C. et al., 1997). Analog zur oben bereits beschriebenen Vorgehensweise wurden aus dem sog. „klinischen Durchschnitt“ wiederum „Zentralgruppen“ gebildet, welche in definierter Weise ausschließlich unter Brustkrebs bzw. einer gutartigen Erkrankung litten und keine wesentliche medikamentöse Therapie erhielten. Daraus resultierten insgesamt 17 Patientinnen mit virginellem Mammacarcinom, welche dann im Verhältnis 1:2 mit altersgleichen Kontrollen „gematcht“ wurden. Es er-

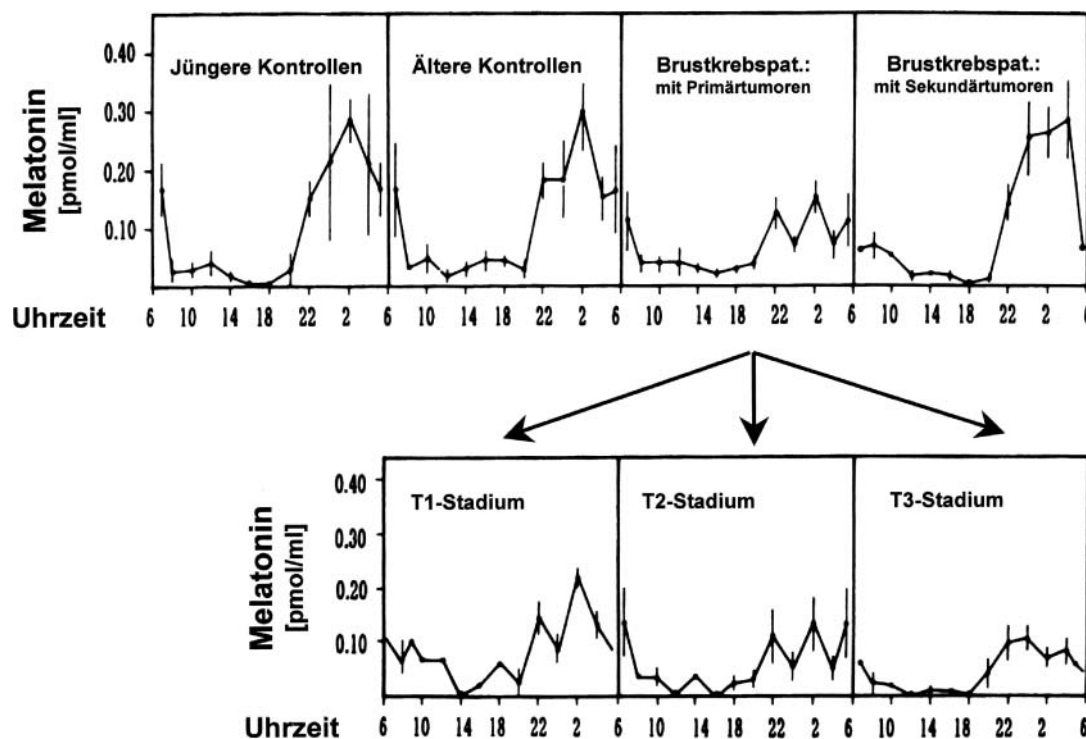


Abb. 8: Mittlere Serum-Melatonin-Konzentrationen \pm SEM zu verschiedenen Zeitpunkten innerhalb eines 24-Stundenzyklus bei Patientinnen mit verschiedenen gutartigen Erkrankungen der Mamma (Jüngere Kontrollen: mit einem mittleren Alter von 30 Jahren; Ältere Kontrollen: mit einem mittleren Alter von 54 Jahren), bei Brustkrebspatientinnen mit lokalisierten Primärtumoren der Mamma (mit einem mittleren Alter von 58 Jahren und den klinischen Stadien $T_1N_0M_0$ bis $T_3N_2M_x$) und bei Patientinnen mit Sekundärtumoren der Mamma (Lokalrezidive nach chirurgischer Entfernung des Ersttumors bzw. mit Fernmetastasen, z. T. unter Anti-Östrogentherapie, mit einem mittleren Alter von 59 Jahren). Die Patientinnen mit einem lokalisierten Primärtumor wurden gemäß der Größe des vorliegenden Tumors unterteilt: T1-Stadium (mittleres Alter: 58 Jahre), T2-Stadium (mittleres Alter: 57 Jahre), T3-Stadium (mittleres Alter: 55 Jahre). Aus: Bartsch C et al. 1989, Cancer 64:426–433.

gab sich eine signifikante Erniedrigung der nächtlichen aMT6s-Ausscheidung bei den Brustkrebspatientinnen um 48 %, welche zudem invers mit der Größe des Primärtumors korreliert war (–40 % im Stadium T₂ und –71 % zu T₃). Da ebenfalls Hoffmann et al. (1996), wie wir zuvor, über eine negative Korrelation zwischen der nächtlichen Melatonin-Konzentration im Blut und der Größe des Primärtumors bei Mammacarcinom-Patientinnen berichteten, kann es als einigermaßen gesichert gelten, dass das Wachstum derartiger Tumore zu einer Verminderung des zirkulierenden Melatonins führt, vorausgesetzt, es liegt eine adäquate Tumorgöße jenseits des T₁-Stadiums vor. Aus diesem Grund ist nicht verwunderlich, dass manche Studien bei Brustkrebspatientinnen keine Veränderungen des nächtlichen Melatonins ergaben (Skene et al., 1996).

Zum besseren Verständnis der Bedeutung des Melatonins sowie seiner Veränderungen bei Brustkrebspatientinnen untersuchten Maestroni und Conti (1996) den Gehalt des Zirbeldrüsenhormons in malignem und benignem Gewebe. Sie fanden darin eine um drei Zehnerpotenzen höhere Melatonin-Konzentration als im Serum der entsprechenden Patientinnen, wobei aber der Gehalt mit zunehmendem Malignitätsgrad der Carcinome wiederum abnahm. Maestroni und Conti (1996) vermuteten, dass aufgrund dieses extrem hohen Melatonin-Gehalts von einer Synthese des Hormons in normalem Brustgewebe auszugehen ist und es als lokal-wirksamer protektiver Faktor gegenüber maligner Entartung fungiert. Unverstanden bleibt jedoch, warum bei zunehmender Malignität des Mammatumors es zu einer Abnahme des lokalen Melatonins kommt und ob es sich dabei um eine verminderte Biosynthese oder um einen vermehrten intra-tumoralen metabolischen Verbrauch handelt, ähnlich wie dies zur Erklärung der beobachteten Verminderung zirkulierenden Melatonins, welches primär von der Zirbeldrüse gebildet wird, bereits oben diskutiert wurde.

2. Endometrial- und Cervixcarcinom

Wie von Sandyk et al. (1992) aus theoretischen Überlegungen vorhergesagt, konnten Karasek et al. (1996) bei ihren Untersuchungen von zehn unbehandelten Patientinnen mit Endometrialcarcinom eine deutliche Verminderung der nächtlichen Melatonin-Konzentration um fast 50 % gegenüber altersgleichen Kontrollen beobachten. Sehr ähnliche Resultate erzielten Grin und Grünberger (1998) bei der Untersuchung von insgesamt 68 Endometrialcarcinom-Patientinnen, bei denen eine ungefähr 80 %ige Verminderung der tagesperiodischen Amplitude des zirkulierenden Melatonins zu finden war. Im Gegensatz dazu konnten Karasek et al. (2000) bei Patientinnen mit Cervixcarcinom praktisch keine Veränderung der nächtlichen Melatonin-Konzentration im Blut finden. Dies bedeutet, dass es sich bei den Veränderungen des Melatonins bei Krebspatientinnen um relativ spezifische

Vorgänge handelt, welche in hohem Maß vom histologischen Typ des beteiligten Tumors abhängen.

3. Ovarialcarcinom

Die nächtliche Exkretion des aMT6s im Urin wurde von uns in Zusammenarbeit mit Prof. I.M. Kvetnoy und Dr. T. Kvetnaia bei insgesamt 119 russischen Ovarialcarcinom-Patientinnen sowie 27 altersgleichen Kontrollen untersucht. Bei diesen Krebspatientinnen zeigte sich eine extrem hohe Variabilität (Kvetnaia et al., 2001; Bartsch C. et al., 2002). Ähnliche Beobachtungen machten wir im Verlauf unserer weiteren Untersuchungen bei deutschen Patientinnen, sowie in Zusammenarbeit mit Prof. Y. Touitou bei französischen Patientinnen, bei welchen die nächtliche Melatonin-Konzentration im Blut bestimmt wurde (Touitou und Bartsch, unveröffentlichte Resultate). Es gelang uns bisher nicht, eine Korrelation zwischen der histologischen Erscheinungsform des Primärtumors bzw. dem klinischen Stadium dieser malignen Erkrankung und der nächtlichen aMT6s-Exkretion bzw. Melatonin-Konzentration im Blut herzustellen. In diesem Zusammenhang überrascht es nicht, dass Karasek et al. (2000) im Mittel keine Veränderung des Melatonin-Tagesprofils im Serum bei insgesamt acht untersuchten Ovarialcarcinom-Patientinnen im Vergleich zu altersgleichen Kontrollen feststellte. Die bei diesen Patientinnen in einigen Fällen extrem hohen Melatonin-Werte könnten im Zusammenhang mit einer extra-pinealen Bildung dieses Hormons im Ovar stehen (Kvetnoy, 1999).

4. Prostatacarcinom

Parallel zu unseren Studien bei Patientinnen mit diversen Tumoren des weiblichen reproduktiven Systems führten wir in den 80er Jahren in Zusammenarbeit mit der Urologischen Abteilung der Universitätsklinik in Tübingen analytische Untersuchungen bei Patienten mit Prostatacarcinomen sowie mit benigner Prostatahyperplasie (BPH) durch, in deren Verlauf wir die 24-Stundenrhythmik der Serum-Melatonin-Konzentration bestimmten. Aus der großen Anzahl der untersuchten Patienten wurden dann, wie zuvor bei unseren Brustkrebsstudien, sog. „Zentralgruppen“ gebildet, welche, abgesehen vom Vorhandensein eines gut- oder bösartigen Tumors der Prostata, weitestgehend gesund waren und nicht medikamentös behandelt wurden. Der Vergleich der 24-stündigen Melatonin-Konzentrationsprofile im Serum zwischen diesen Gruppen ergab in der ersten Studie, dass die unoperierten Prostatacarcinom-Patienten (PC, n = 9) gegenüber den altersgleichen Patienten mit BPH (n = 13) extrem niedrige Werte aufwiesen und kein signifikanter Rhythmus mehr nachweisbar war. Bei diesen PCs handelte es sich um lokalisierte Primärtumore unterschiedlichster Größe. Er-

wähnenswert ist, dass Patienten mit sog. Inzidentalcarinomen (PCi, n = 5) demgegenüber auffallend hohe Melatonin-Amplituden zeigten, welche sogar höher waren als bei den BPH-Patienten (Bartsch C. et al., 1983, 1985). Bei diesen Tumoren handelt es sich prinzipiell um eine BPH, bei der jedoch im Verlauf der postoperativen histopathologischen Untersuchung eng umgrenzte Bereiche hoch-differenzierter maligner Zellen entdeckt werden. Es ist davon auszugehen, dass diese Zellen in ihrem Wachstum kontrolliert sind, denn es ist bekannt, dass ein hoher Prozentsatz von Männern in hohem Alter ein PCi besitzen (Scott et al., 1969). Es ist denkbar, dass die ausgeprägte Melatonin-Rhythmik bei Patienten mit PCi im Zusammenhang mit erhöhten Krebsabwehrmechanismen steht.

Im Verlauf unserer zweiten Tübinger Prostatacarcinom-Studie wurden in den Zentralgruppen sieben weitere Patienten mit unoperierter sowie un behandelter BPH sowie neun Patienten mit PC untersucht. In diesem Fall war die Amplitude der Serum-Melatonin-Konzentration bei den Krebspatienten um 65 % gegenüber den Patienten mit BPH vermindert, womit sich das Resultat der ersten Studie prinzipiell bestätigte (Bartsch C. et al., 1992). Da beide Studien in derselben Abteilung sowie unter Verwendung identischer Protokolle sowie analytischer Methoden durchgeführt wurden, konnten die hormonellen Daten vereint und gemeinsam ausgewertet werden. Für die miteinander vereinten „Zentralgruppen“ zeigte sich zunächst, dass bei den insgesamt 18 Patienten mit PC die Amplitude des Serum-Melatoninrhythmus gegenüber den 20 Patienten mit BPH um 71 % signifikant erniedrigt war (Bartsch C. et al., 1998). Anschließend wurden die Patienten mit PC und BPH entsprechend der Größe ihres Tumors unterteilt, nämlich in kleine (BPH+/T₁), mittelgroße (BPH++/T₂) und große (BPH+++/T_{3/4}), und einander entsprechende gut- und bösartige Stadien miteinander verglichen. Bei Patienten mit T₁-Tumoren war die Amplitude der Serum-Melatonin-Konzentration geringfügig um 28 % vermindert, wohingegen Patienten mit T₂- und T_{3/4}-Tumoren in beiden Fällen eine signifikante Erniedrigung um fast 80 % gegenüber den entsprechenden Kontrollen (BPH++ bzw. BPH+++) aufwiesen (Bartsch C. et al., 1998; Abb. 9).

Als Grund für diese Beobachtungen konnte, wie zuvor bei den oben besprochenen Brustkrebspatientinnen, eine Veränderung des peripheren Melatonin-Metabolismus in der Leber hin zum aMT6s durch zusätzliche Bestimmungen dieses Parameters in Serum und Urin ausgeschlossen werden (Bartsch C. et al., 1992, 1994b). Da wir vermuteten, dass es durch die Gegenwart eines adäquat großen malignen Primärtumors entweder zu einer Sekretionshemmung des Melatonins kommt oder aber ein vermehrter intra-tumoraler Verbrauch des Melatonins erfolgt, war wichtig zu überprüfen, ob es bei Patienten mit stark vermindertem nächtlichen Serum-Melatonin nach chirurgischer Entfernung des Primärtumors eventuell wieder zu einer Normalisierung käme. Dies war jedoch zu unserer

Überraschung nicht der Fall; nur bei Behandlung mit hohen Östrogen-Dosen zeigte sich ein Anstieg der nächtlichen Melatonin-Konzentration (Bartsch C. et al., 1986). Demgegenüber hatten Patienten mit distalen Metastasen, im Gegensatz zu jenen mit regionärem Lymphknotenbefall, auffallend hohe Amplituden der Melatonin-Konzentration im Serum (Bartsch C. et al., 1994b), was auf die Möglichkeit einer Normalisierung des nächtlichen Melatonins nach einer Phase vorübergehender Depression im Verlauf des lokalisierten Tumorwachstums hinweist.

Diese Resultate deuten darauf hin, dass ein fortgeschrittener, aber immer noch lokalisiert wachsender Primärtumor *per se* nicht zu einer Depression des zirkulierenden Melatonins führt, sondern komplexere systemische Veränderungen daran beteiligt sind, welche sich im Verlauf dieser Phase der Krebserkrankung einstellen. Ein deutlicher Hinweis für diese Annahme wurde durch unsere Paralleluntersuchungen weiterer hormoneller Parameter bei den Patienten der vereinten „Zentralgruppen“ der ersten und zweiten Prostatacarcinom-Studie gewonnen (Bartsch, 1994a,b, 1998). Analog zur Endauswertung unserer tagesperiodischen Melatonin-Resultate wurden diese Hormondaten entsprechend der Größe der BPH bzw. des PC unterteilt. Dabei zeigten sich einige fortschreitende chronobiologische Veränderungen parallel zu ansteigender Größe des lokalisierten Primärtumors. Besonders auffallend war dabei, dass sich aus einem 24-stündigen Prolactin-Rhythmus, welcher noch bei kleinen Tumoren (T₁) sowie bei allen BPHs (BPH+ – BPH+++) zu beobachten war, ein ultradianer Rhythmus mit etwa zwölfstündiger Phasenlänge beim Übergang zu T₂ und besonders T_{3/4} entwickelte (Abb. 10; Bartsch C. et al., 1998). Hinweise auf ähnliche Veränderungen ergaben sich auch für das Somatotropin. Klare Tumorgrößen-abhängige Veränderungen wurden ebenfalls beim TSH gefunden, trotz in weiten Grenzen stabiler Thyroxin-Rhythmik: zu T₁ war noch ein Tag-/Nachtrhythmus mit einem nächtlichen Maximum zu finden, während bei den größeren Tumoren (T₂ sowie T_{3/4}) insgesamt sehr niedrige Serum-Konzentrationen zu finden waren (Abb. 11; Bartsch C. et al., 1998). Die Gonadotropine (LH, FSH) zeigten in keiner der untersuchten Gruppen signifikante Rhythmen. Auffällig war jedoch, dass bei Patienten mit T_{3/4} eine sehr hohe inter-individuelle Variabilität vorlag. Demgegenüber zeigten die 24-Stundenprofile des Testosterons in keiner Weise Tumorgrößen-abhängige Veränderungen, was ebenso für Thyroxin und Cortisol galt, bei dem in allen Untergruppen sogar signifikante Rhythmen nachweisbar waren (Bartsch C. et al., 1998).

Aus diesen Ergebnissen ist ersichtlich, dass es im Verlauf des lokalisierten Wachstums von Prostatacarcinomen zu fortschreitenden zentralen hormonellen Rhythmus-Veränderungen kommt, während periphere Hormone, wie das Cortisol, Testosteron und Thyroxin, kaum beeinträchtigt sind. Dies deutet darauf hin, dass es im endokrinen Hypothalamus bei PC zu Regulationsstörungen kommt,

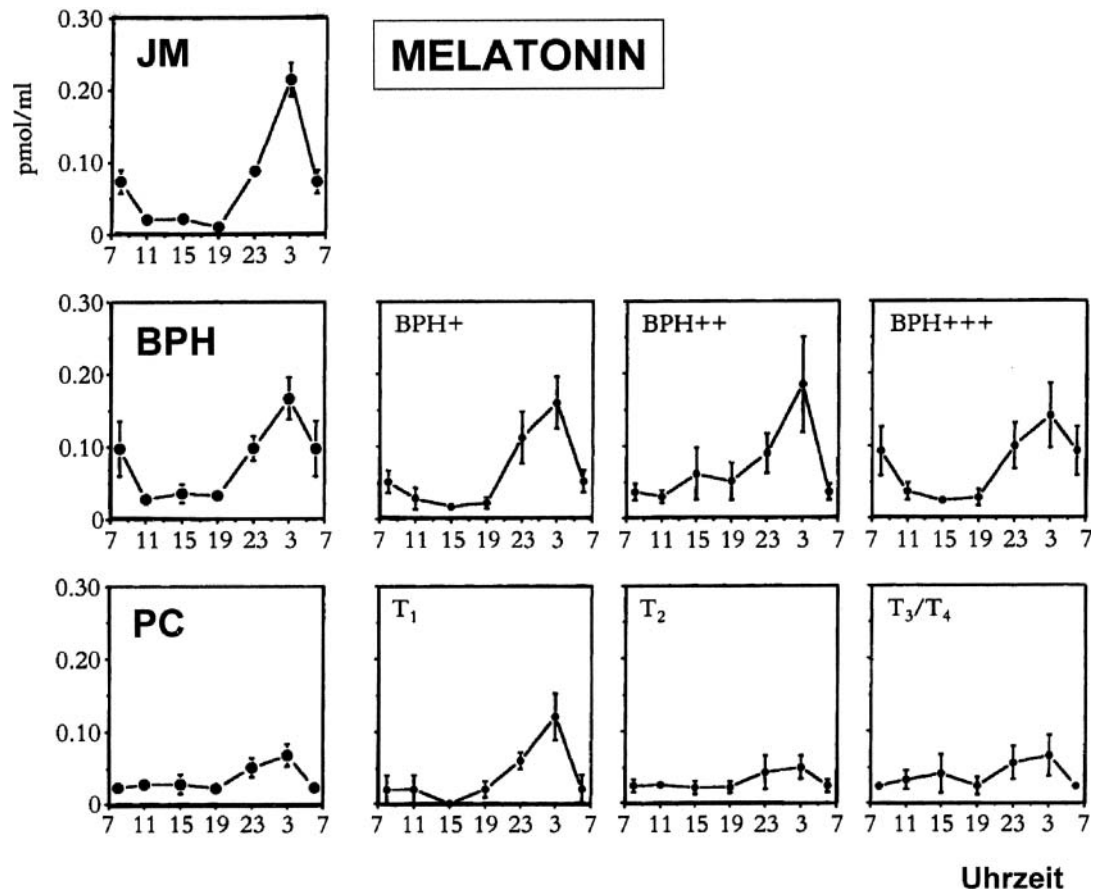


Abb. 9: Mittlere Serum-Melatonin-Konzentrationen \pm SEM zu verschiedenen Zeitpunkten innerhalb eines 24-Stundenzyklus bei Patienten mit unoperierter und unbehandelter benigner Prostatahyperplasie (BPH, mittleres Alter 68 Jahre) bzw. mit unoperierten lokalisiert wachsenden Primärcarcinomen der Prostata (PC, mittleres Alter 69 Jahre) sowie bei gesunden jungen Männern (JM, mittleres Alter 30 Jahre). Die Patienten mit BPH und PC wurden gemäß der Größe des vorliegenden Tumors unterteilt: BPH+/T1, BPH++/T2 und BPH+++/T3/4. Aus: Bartsch C et al. 1998, *The Aging Male* 1:188–199.

welche im Verlauf klinischer sowie experimenteller Folgeuntersuchungen eingehender zu charakterisieren wären. Eine zentrale Frage ist, welche funktionelle Bedeutung die Tumorgößen-abhängige Verminderung der Melatonin-Amplitude dabei spielt – ist sie möglicherweise unmittelbare Ursache für eine gestörte hypothalamische Steuerung adenohipophysärer Hormone (Cagnacci, 1997)? Alternativ dazu ist denkbar, dass die Veränderung der Melatoninsekretion sowie der hypothalamo-hipophysären Hormone ihren gemeinsamen Ursprung in einer Störung des zentralen circadianen Oszillators im NSC durch die Primärtumorentwicklung haben. Auf die möglicherweise daran beteiligten Mechanismen soll an späterer Stelle, nach Besprechung der entsprechenden tierexperimentell-analytischen Resultate, detaillierter eingegangen werden. Dieses vom Tumor generierte hormonelle Ungleichgewicht könnte eine ganz wesentliche Rolle zur Vorbereitung des Metastasierungsprozesses spielen, welcher erst dann erleichtert ablaufen kann, wenn die normale tagesperiodische Zeitstruktur unter Kontrolle des NSC sowie des Melatonins nicht mehr anhält. Ist diese temporale Ordnung

im neuroimmunoendokrinen Netzwerk dann gestört, bricht der Melatonin-Rhythmus zusammen und es entwickeln sich ultradiane Rhythmen (Prolactin), so kann dann das maligne Geschehen seinen weiteren fatalen Lauf nehmen (Bartsch C. et al., 1994b; Bartsch C. und Bartsch H., 1994, 1997). Über eine Störung tagesperiodischer Vorgänge berichtete in jüngerer Zeit ebenfalls die Gruppe um F. Levi (Mormont und Levi, 1997; Rich et al., 2005; Filipski et al., 2006) und versucht, basierend auf diesen Erkenntnissen, chronobiologisch-optimierte Therapie-Schemata für Krebspatienten zu entwickeln (Levi, 2006).

Tumore außerhalb des reproduktiven Systems

1. Schilddrüsenkarzinom

In einer Untersuchung der nächtlichen aMT6s-Exkretion mit I.M. Kvetnoy und T. Kvetnaia bei russischen Patientinnen mit unoperierten lokalisierten Primärtumoren der

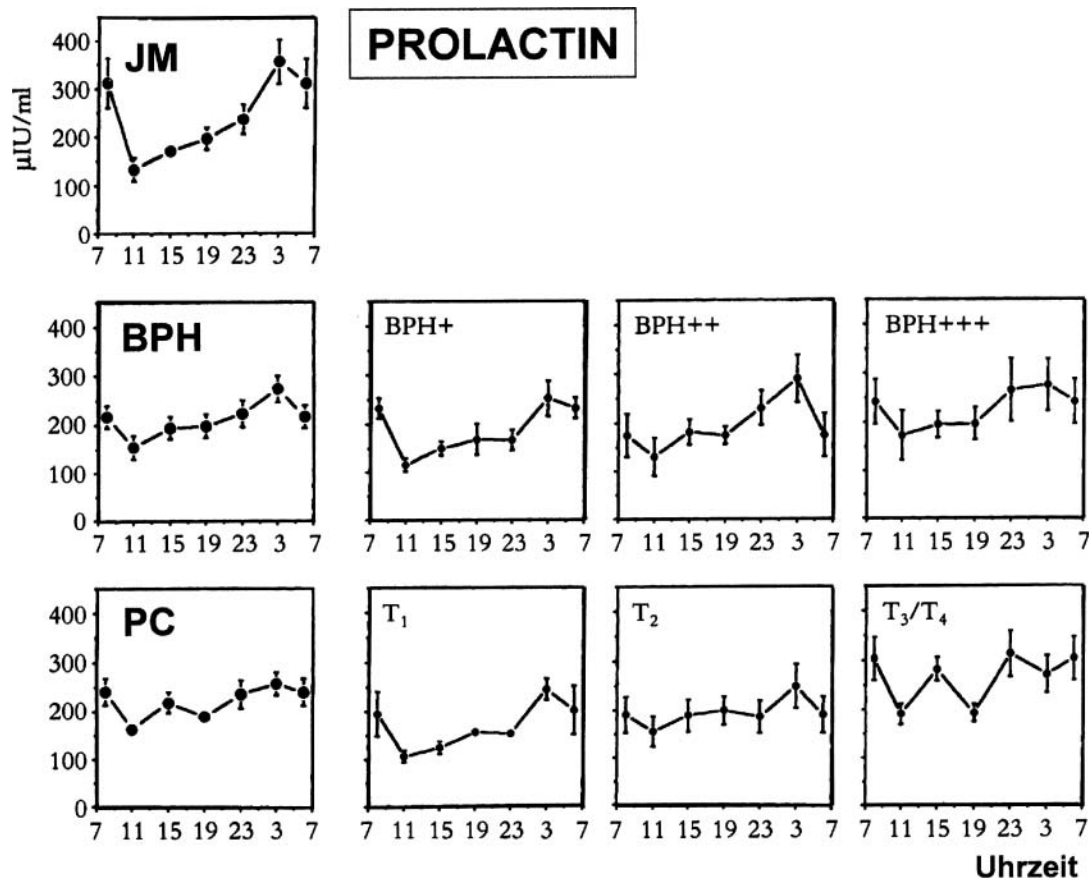


Abb. 10: Mittlere Serum-Prolactin-Konzentrationen \pm SEM zu verschiedenen Zeitpunkten innerhalb eines 24-Stundenzyklus bei Patienten mit unoperierter und unbehandelter benigner Prostatahyperplasie (BPH) bzw. mit unoperierten lokalisiert wachsenden Primärcarcinomen der Prostata (PC) sowie bei gesunden jungen Männern (JM). Die Patienten mit BPH und PC wurden gemäß der Größe des vorliegenden Tumors unterteilt: BPH+/T1, BPH++/T2 und BPH+++/T3/4. Aus: Bartsch C et al. 1998, *The Aging Male* 1:188–199.

Schilddrüse ($n = 6$) zeigte sich eine 56%ige Verminderung gegenüber gesunden Kontrollen desselben Altersbereichs ($n = 27$) (Kvetnaia et al., 2001). Diese Veränderung ist offenbar nicht Krebs-spezifisch, da Patientinnen mit verschiedenen gutartigen Erkrankungen der Schilddrüse ($n = 12$; blande Strumen, Adenome sowie Hashimoto Thyreoiditis) ebenfalls eine signifikant verminderte aMT6s-Ausscheidung (–60%) gegenüber den gesunden Kontrollen aufwiesen. Diese Beobachtung ist in Übereinstimmung mit den Befunden von Kuzdak und Komorowski (1995), welche bei Patientinnen mit recidivierenden Strumen ebenfalls eine verminderte Amplitude der Plasma-Melatonin-Konzentration beobachteten. In offensichtlichem Widerspruch zu unseren oben erwähnten Resultaten bei Patienten mit Schilddrüsenkrebs stehen hingegen die Resultate zur Verdopplung der Amplitude des Serum-Melatonins bei derartigen Patienten gegenüber altersgleichen Kontrollen (Bartsch C. et al., 2002), was sich bei einer genaueren Analyse eventuell aufgrund des Vorhandenseins distaler Metastasen erklären ließe.

2. Larynxcarcinom

In einer weiteren Studie zusammen mit dem Ehepaar Kvetnoy wurden in Moskau und Obninsk insgesamt 25 Patienten mit primärem Larynxcarcinom unterschiedlicher histopathologischer Differenzierung (G_{1-3}) sowie verschiedener klinischer Stadien ($T_{2-4}N_{0-2}M_{0-1}$) hinsichtlich ihrer nächtlichen aMT6s-Exkretion im Urin untersucht (Kvetnaia et al., 2001). Zunächst zeigte sich, dass die mittlere nächtliche aMT6s-Exkretion aller untersuchten Patientinnen gegenüber altersgleichen gesunden Kontrollen praktisch unverändert war (+12%). Wurden die nächtlichen aMT6s-Werte der Patienten jedoch entsprechend der Größe des Primärtumors angeordnet, so ergab sich bei Patienten mit relativ kleinen Tumoren des T_2 -Stadiums ($n = 4$) eine Erhöhung um 125% gegenüber den Kontrollen, während zum T_4 -Stadium ($n = 5$) eine 62%ige Erniedrigung zu verzeichnen war und sich Patienten im T_3 -Stadium ($n = 16$) praktisch nicht von den Kontrollen unterschieden. Diese Resultate weisen auf eine Tumormößen-abhängige Modulation der Melatonin-Produktion hin. Auch bei einer Anordnung der nächtlichen

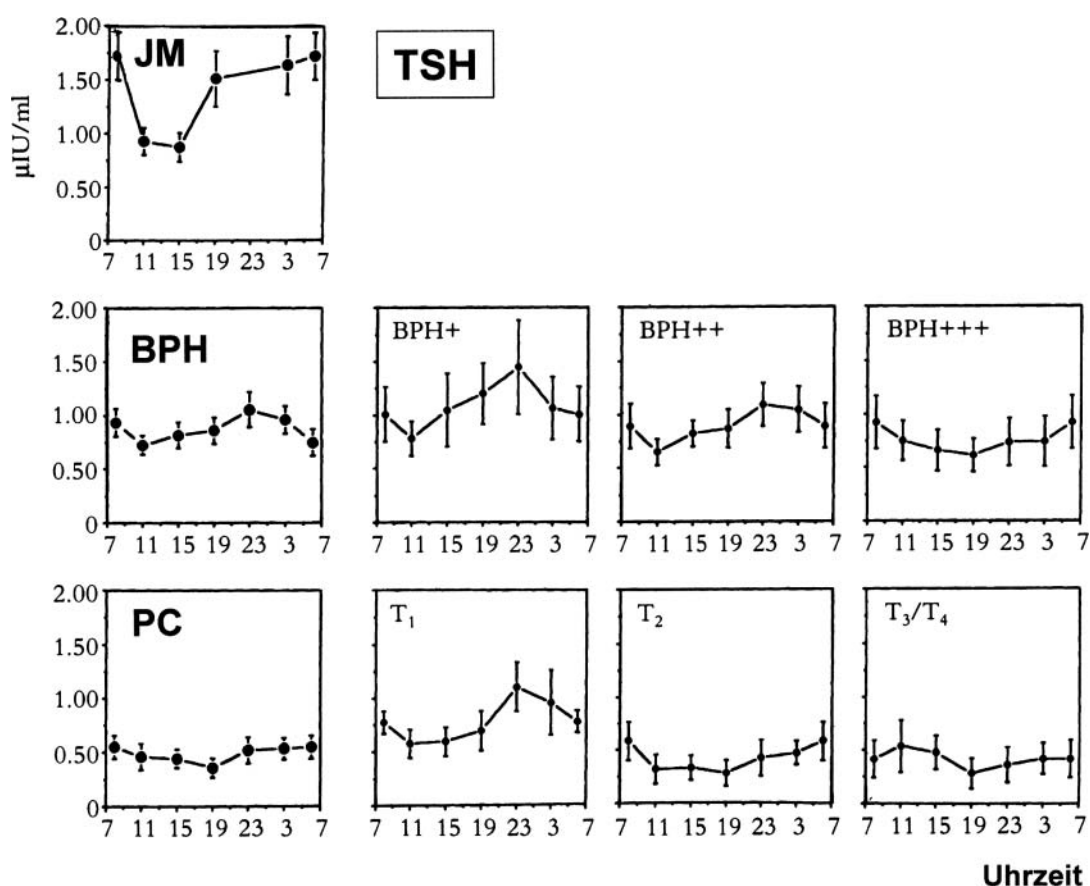


Abb. 11: Mittlere Serum-TSH-Konzentrationen \pm SEM zu verschiedenen Zeitpunkten innerhalb eines 24-Stundenzyklus bei Patienten mit unoperierter und unbehandelter benigner Prostatahyperplasie (BPH) bzw. mit unoperierten lokalisiert wachsenden Primärcarcinomen der Prostata (PC) sowie bei gesunden jungen Männern (JM). Die Patienten mit BPH und PC wurden gemäß der Größe des vorliegenden Tumors unterteilt: BPH+/T₁, BPH++/T₂ und BPH+++/T_{3/4}. Aus: Bartsch C et al. 1998, *The Aging Male* 1:188–199.

aMT6s-Exkretionswerte gemäß des histopathologischen „gradings“ der Tumore zeigte sich eine Stadien-abhängige Modulation: in Gegenwart hochdifferenzierter Tumoren (G₁) wurde eine 52%ige Erhöhung beobachtet, während bei entdifferenzierten Tumoren (G₃) sehr niedrige Werte zu finden waren.

3. Bronchialcarcinom

Kvetnaia et al. (2001) beobachteten bei 31 unoperierten Bronchialcarcinom-Patienten der klinischen Stadien T₁₋₄N₀₋₃M₀₋₁, welche sich histologisch als Adenocarcinome sowie squamöse Carcinome darstellten, eine signifikant verminderte nächtliche aMT6s-Exkretion (–59%) gegenüber Tumor-freien Kontrollen gleichen Alters. In diesem Fall ergab eine Anordnung der nächtlichen aMT6s-Werte gemäß der Größe des vorliegenden Primärtumors keinerlei Stadienabhängigkeit. In ähnlicher Weise beobachteten Viviani et al. (1992) bei Patienten mit nicht-kleinzelligem Lungenkrebs eine Verminderung des Serum-Melatonins, welche interessanterweise durch IL-2 Gabe wieder normalisierbar war.

4. Magencarcinom

Bei Patienten mit primärem und unoperierten Magenkrebs (n = 8) fanden Kvetnaia et al. (2001) eine um 59% signifikant verminderte nächtliche aMT6s-Exkretion im Urin. Es handelte sich um die fortgeschrittenen klinischen Stadien T₃₋₄N_{2-X}M₀, bei denen große lokalisierte Adenocarcinome vorlagen. In einer vorangegangenen Studie fanden Kvetnoi und Levin (1987) bei derartigen Patienten ein invertiertes Tag-/Nachtverhältnis der Melatonin-Exkretion im Urin, was auf eine Phasenverschiebung der Melatonin-Sekretion bei dieser Krebsart hinweist.

5. Colorektales Carcinom

Zuerst untersuchten Khoory und Stemme (1988) den 24-Stundenrhythmus der Melatonin-Konzentration im Plasma bei Patienten mit unoperierten primären colorektalen Carcinomen, mit oder ohne Metastasierung, und detektierten eine ausgeprägte Erniedrigung des nächtlichen Melatonins. Im Gegensatz dazu fanden Kvetnaia et al. (2001)

bei 15 unoperierten sowie unbehandelten Patienten mit zu meist großen Adenocarcinomen der Stadien T₃ und T₄, welche in manchen Fällen eine ausgeprägte Lymphknoten-infiltration zeigten (N₂₋₄) sowie vereinzelt Fernmetastasen aufwiesen, eine um 44 % erhöhte nächtliche aMT6s-Ausscheidung im Urin gegenüber Tumor-freien Kontrollen gleichen Alters. Da bei Paralleluntersuchungen eine ähnliche Erhöhung des aMT6s bei Patienten mit Colitis ulcero-sa gefunden wurde, folgerten Kvetnaia et al. (2001), dass es sich bei der beobachteten Erhöhung der nächtlichen aMT6s-Bildung bei ihren Patienten mit colorektalem Carcinom um keine Krebs-spezifischen Veränderungen handelte. Der offensichtliche Widerspruch zwischen den Ergebnissen der beiden erwähnten Studien zur selben Krebsart bleibt gegenwärtig unverstanden und wäre im Verlauf weiterer Untersuchungen abzuklären.

6. Sonstige Krebsarten

Divergente und schwer interpretierbare Resultate wurden ebenfalls von Panzer und Viljoen (1998) zur 24-Stunden-ekretion des aMT6s bei Patienten mit Osteosarkomen (n = 10) berichtet: bei 80 % der Fälle ergab sich eine Erniedrigung gegenüber den Kontrollen während bei den restlichen 20 % drastisch erhöhte Werte gefunden wurden. Ebenso berichteten Lissoni et al. (1986) über auffal-lend hohe nächtliche Melatonin-Konzentrationen bei eini-gen seiner Patienten mit Hodgkin-Sarkom. Die zitierten Studien müssen als vorläufig eingestuft werden und soll-ten unbedingt wiederholt werden. Noch weniger Informa-tionen sind in der gegenwärtigen medizinisch-wissen-schaftlichen Literatur über klinisch-diagnostische Untersuchungen zum Melatonin sowie sonstige hormo-nelle Parameter bei Patienten mit diversen hämatopoieti-schen Neoplasien zu finden. Es ist denkbar, dass sich da-bei gänzlich andere analytische Resultate als bei den bisher zitierten Untersuchungen bei Patienten mit soliden Tumoren ergeben würden, da sich aus therapeutischer Sicht spiegelbildliche Verhältnisse andeuten: die Pineal-ektomie führt zur Wachstumsstimulation solider Tumore, während sie auf eine experimentelle Leukämie bei Mäu-sen Lebenszeit-verlängernd wirkte (Conti et al., 1992).

Tierexperimentell-analytische Studien

Die oben beschriebenen klinischen Resultate zeigen, dass der 24-Stundenrhythmus des zirkulierenden Melatonins durch das Wachstum maligner Tumore in Abhängigkeit vom histologischen Typ sowie seines klinischen Stadiums verändert wird. Diese Zusammenhänge besser zu charak-terisieren sowie die daran beteiligten Mechanismen ein-gehender zu verstehen, ist das Ziel tierexperimentell-ana-lytischer Studien. Im Blickpunkt steht dabei die Frage, ob und wie die Melatonin-Sekretion durch die Gegenwart eines malignen Tumors beeinflusst wird.

Vera Lapin untersuchte als erste den Einfluss eines Transplantationstumors auf die Zirbeldrüse. Sie beobach-tete eine negative Korrelation zwischen der Größe des vorliegenden Yoshida-Tumors und dem Melatonin-Gehalt in der Zirbeldrüse und interpretierte dieses Resultat als Hinweis auf eine Hemmung der Melatonin-Biosynthese durch das Krebswachstum (Lapin und Frowein, 1981). Diese Annahme wird durch Untersuchungen unterstützt, bei denen Kulturüberstände von Krebszellen die Melato-nin-Biosynthese der Zirbeldrüse unter *in vitro*-Bedingun-gen zu hemmen vermochten (Leone und Skene, 1994; Schmidt, 1996; Schmidt et al., 1997), was möglicherwei-se im Zusammenhang mit der Produktion von Wachs-tumsfaktoren der malignen Zellen stehen könnte (Cos et al., 2000). In scheinbarem Widerspruch dazu beobach-teten wir in zwei voneinander unabhängigen Experimen-ten, dass F344-Fischer Ratten mit DMBA-induzierten Mammacarcinomen sowie BDII/Han-Ratten mit sponta-nen Endometrialcarcinomen eine erhöhte nächtliche Me-latonin-Produktion, gemessen an der Urin-Ausscheidung des aMT6s, im Vergleich zu tumorfreien Kontrollen zeigten, was zum Verlust saisonaler Rhythmik führte (Bartsch H. et al., 1994c, 2001b).

Für ein besseres Verständnis der Mechanismen, welche zur Veränderung des Melatonins durch das Tumorgesche-hen führen, wurde ein durch DMBA induziertes Mamma-carcinom auf weibliche F344-Fischer Inzucht-Ratten seri-ell transplantiert, so dass Tiere verschiedener Passagen mit unterschiedlich gut differenzierten Tumoren (auf-grund intra-tumoraler Gewebsumformungsprozesse) ana-lysiert werden konnten. Zur zweiten seriellen Passage hatte sich aus dem ursprünglich DMBA-induzierten Ade-nocarcinom ein lokalisiert wachsendes Carcinosarcom entwickelt (siehe oben).

Nach Überpflanzung des Ursprungstumors auf acht weibliche F344-Fischer Ratten wurde bei diesen Tieren über 180 Tage hinweg einmal monatlich nachts in zwei Intervallen Urin gesammelt (19 bis 23 Uhr sowie 23 bis 7 Uhr; L:D = 12:12). Aus den Proben des letzteren Sammelintervalls wurde neben dem Melatonin auch das Gesamt-Tetrahydrobiopterin (tBH₄) bestimmt, welches bei der Ratte durch die Makrophagen in Abhängigkeit vom Status der T-Zellaktiviät und unter Kontrolle von γ -Interferon gebildet wird. Als Kontrollen dienten 12 al-tersgleiche weibliche F344-Fischer Ratten, denen zum Zeitpunkt der Tumortransplantation subkutan eine phys. NaCl-Injektion verabreicht wurde. Bei der Analyse der nächtlichen Melatonin-Konzentration im Urin zeigte sich nach erfolgreicher Tumortransplantation umgehend ein Anstieg im Bereich von 40–50 % gegenüber den Tumor-freien Kontrollen. Als nach 180 Tagen bei den Tumortie-ren die nächtliche Plasma-Melatonin-Konzentration (2 bis 3 Uhr) bestimmt wurde, ergab sich eine signifikante Er-höhung um 42 % gegenüber den Kontrollen (Bartsch C. et al., 1995a). Bei der nächtlichen tBH₄-Ausscheidung waren im Vergleich zum Melatonin noch weitaus deutli-

chere Veränderungen zu beobachten, wobei parallel zum Größenwachstum der Tumore ein zunehmender Anstieg um bis zu 220 % erfolgte (Abb. 12; Bartsch C. et al., 1995a).

Entsprechende analytische Untersuchungen bei F344-Fischer Ratten mit Tumoren der Passage 12 (schnell wachsende Sarcome mit Bildung von Metastasen in Lunge und mediastinalen Lymphknoten) ergaben demgegenüber diametral entgegengesetzte Resultate: Melatonin sowie tBH₄ fielen im Nachturin der Tiere im Verlauf des rasch fortschreitenden Größenwachstums der Tumore jeweils um etwa 30 % ab und am Ende des Experiments, nach nur einem Monat, wiesen die Tumortiere eine um 70 % statistisch signifikante Verminderung der nächt-

lichen Plasma-Melatonin-Konzentration (2 bis 3 Uhr) auf (Abb. 13; Bartsch C. et al., 1995a).

Diese Beobachtungen belegen exemplarisch, dass nächtlich zirkulierendes Melatonin durch das Wachstum von Tumoren unterschiedlicher Histologie in vollständig entgegengesetzter Weise verändert werden kann. Diese Veränderungen verlaufen offenbar parallel zu ansteigender bzw. abfallender T-Zell-abhängiger Makrophagenaktivität.

Um besser zu verstehen, welche biochemischen Prozesse in der Zirbeldrüse mit diesen Veränderungen des Melatonins verbunden sind, wurden bei den Tieren mit den Tumorpässagen 2 und 12 sowie deren Kontrollen wesentliche Schritte der Melatonin-Biosynthese untersucht

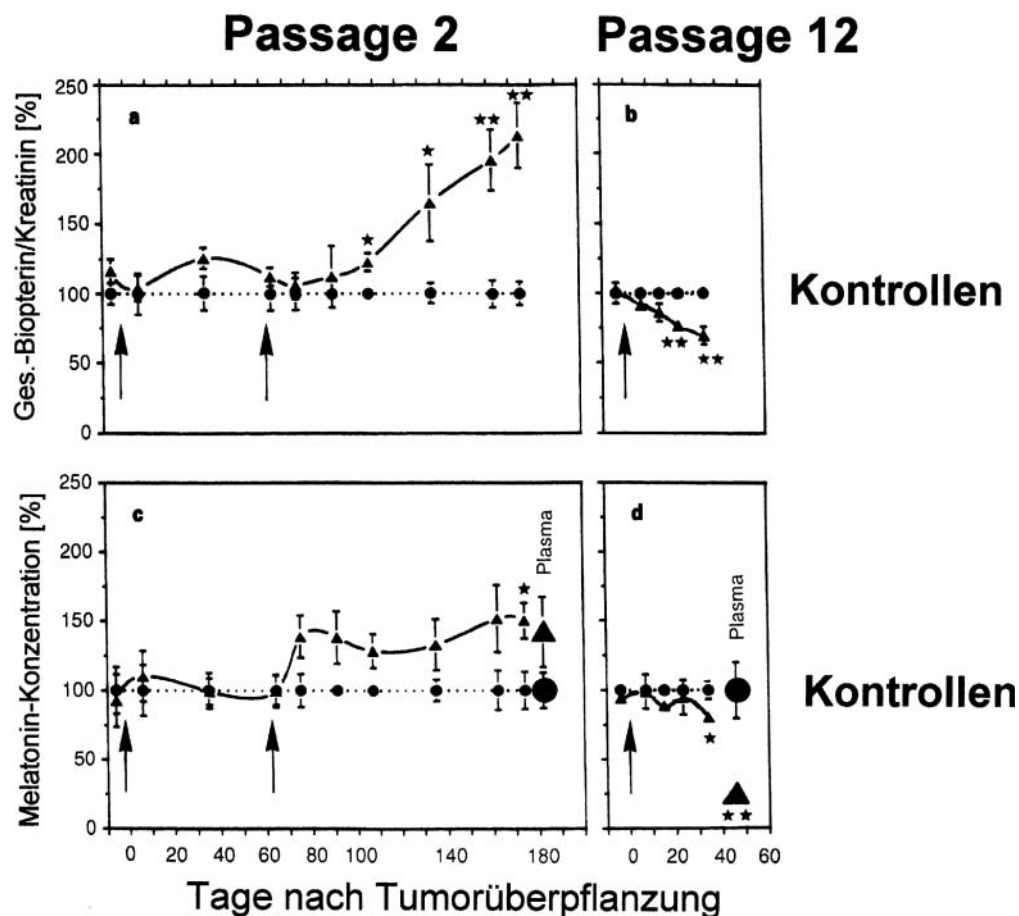


Abb. 12: Die Resultate in den Gruppen der tumortragenden Tiere sind als relative Mittelwerte \pm SEM ausgedrückt und wurden auf die jeweiligen zeitgleichen Kontrollen bezogen, welche 100 % gesetzt wurden. * $p < 0,01$, ** $p < 0,001$. Die Pfeile weisen auf die Zeitpunkte der Tumortransplantation hin. (a,c): Resultate bei Tieren mit der Tumorpässage 2 (lokalisierte Carcinosarcome) einer Brustkrebszelllinie, welche von einem DMBA-induzierten Adenocarcinom der Mamma abgeleitet wurde, sowie bei Tumor-freien Kontrolltieren. Hierbei erwies sich die zweite Tumortransplantation am Tag 62 als erfolgreich und führte am Tag 181 zu Tumoren mit einem mittleren Tumolvolumen von 25 bis 30 cm³. (b,d): Resultate bei Tieren mit der Tumorpässage 12 (metastasierende Sarcome) der obigen Brustkrebszelllinie sowie bei Tumor-freien Kontrolltieren. Am Tag 46 nach der Transplantation zeigten diese Tumore ein mittleres Tumolvolumen von 25 bis 30 cm³. (a,b): Die Gesamtbiopterin-Ausscheidung im Urin ist sowohl vor als auch nach der Tumortransplantation dargestellt; ausgedrückt als Gesamtbiopterin-Konzentration bezogen auf die jeweilige Kreatinin-Konzentration. (c,d): Die Ausscheidung des Melatonins im Urin ist sowohl vor als auch nach der Tumortransplantation dargestellt und ist als Konzentration ausgedrückt. Die Konzentration des nächtlichen Melatonins im Plasma ist zum Zeitpunkt der nächtlichen Maximalsekretion (2 bis 3 Uhr) am Ende der beiden Experimente in großen Symbolen gezeichnet. Aus: Bartsch C et al. 1995, Oncology 52:278–283.

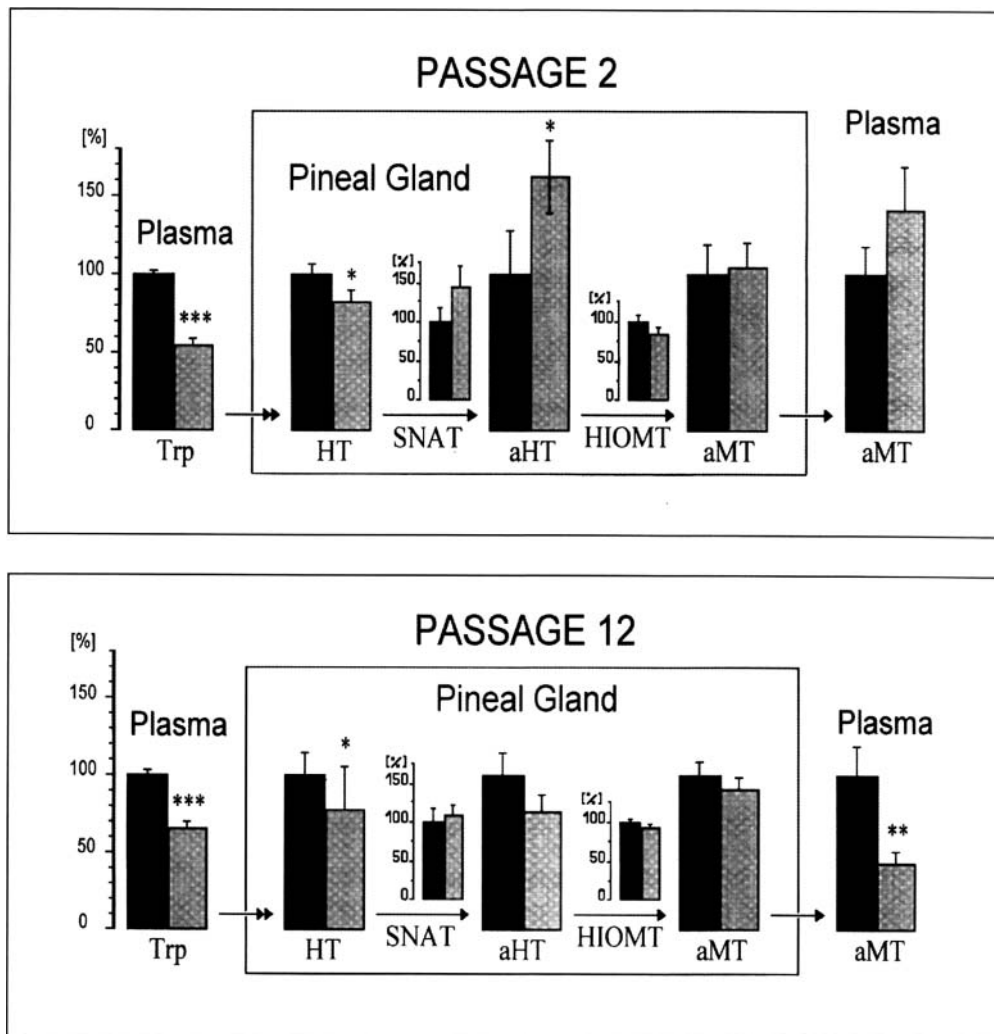


Abb. 13: Nächtliche Biosynthese im Pinealorgan und dessen Sekretion (2 bis 3 Uhr) bei weiblichen F344 Fischer Ratten mit seriellen Transplantaten der Passage 2 bzw. 12, welche ursprünglich von einem malignen Tumor abgeleitet wurden, der mittels DMBA chemisch induziert wurde (schattierte Balken) und bei Tumor-freien Kontrollen (schwarze Balken). Verwendete Abkürzungen: Trp (Plasma Tryptophan), HT (Serotonin), aHT (N-Acetylserotonin), SNAT (Serotonin-N-acetyltransferase), HIOMT (Hydroxyindol-O-methyltransferase, aMT (Melatonin im Pinealorgan bzw. Plasma). Mittelwerte \pm SEM, die Mittelwerte der entsprechenden Kontrollen wurden 100 % gesetzt; Mann und Whitney U-Test: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$. Aus: Bartsch C et al. 1999, Oncology 56:169–176.

(Abb. 13). Zunächst zeigte sich, dass der Melatonin-Gehalt der Zirbeldrüse der Tumortiere in keinem Zusammenhang mit den beobachteten Veränderungen in Plasma und Urin stand und sich nicht von den tumorfreien Kontrollen unterschied (Bartsch C. et al., 1994a, 1999). Bei den Tieren mit Tumoren der Passage 2 wurde jedoch ein signifikant erhöhter N-Acetylserotonin-Gehalt der Zirbeldrüse (+62 %) gefunden und die Aktivität des Schrittmacherenzym der Melatonin-Biosynthese, der Arylalkylamin-N-acetyltransferase (AANAT), lag um 45 % höher als bei den Kontrollen, was jedoch auf eine vermehrte Melatonin-Bildung hindeutete. Demgegenüber ergaben sich bei Tumortieren der Passage 12, welche einen verminderten Melatonin-Gehalt in Plasma und Urin zeigten,

keinerlei Hinweise auf eine verminderte Aktivität der AANAT sowie der Hydroxyindol-O-methyltransferase (HIOMT), welche den letzten Schritt der Melatonin-Biosynthese katalysiert (Bartsch C. et al., 1994a, 1999). Da aber der Gehalt an N-Acetylserotonin um 20 % und der des Serotonins signifikant um 24 % vermindert war, muss in diesem Fall dennoch von einer verminderten nächtlichen Biosynthese-Leistung der Zirbeldrüse ausgegangen werden. Der Grund dafür scheint in einer reduzierten Verfügbarkeit des Tryptophans (Vorläufer-Aminosäure für die pineale Melatonin-Biosynthese) zu liegen, welches bei Tieren der Tumorphase 12 im Plasma (2 bis 3 Uhr) signifikant um 34 % vermindert war. Interessanterweise zeigten auch Tiere der Passage 2 eine signifikante Ver-

minderung des Plasma-Tryptophans, was als wahrscheinlicher Grund für den ebenfalls signifikant verminderten Abfall des Serotonin-Gehalts der Zirbeldrüse (-18 %) bei diesen Tieren gelten kann (Abb. 13); in diesem Fall aber aufgrund der kompensatorisch erhöhten Aktivität der AANAT nicht zur Hemmung (sondern sogar zur Erhöhung) der nächtlichen Melatonin-Sekretion führte (Bartsch C. et al., 1999; Bartsch C. und Bartsch H., 2006).

Diese Resultate verdeutlichen, dass es sich bei Veränderungen der Melatonin-Sekretion in Gegenwart maligner Tumore um komplexe und einander überlagernde antagonistische Prozesse handelt, welche in ihrer Summation nicht leicht vorhersehbar bzw. interpretierbar sind. Als Ansatzpunkt für ein besseres Verständnis dieser vielschichtigen Vorgänge sei auf weitere Befunde bei unseren tierexperimentellen Untersuchungen mit tumortragenden F344-Fischer Ratten eingegangen. Dabei interessierte, wie sich die biochemische Wirkungskette zwischen den begleitenden Veränderungen des Melatonins sowie des Gesamt-Tetrahydrobiopterins (tBH₄) bei den Passagen 2 (Erhöhung) und 12 (Erniedrigung) gestalten würde.

Da die AANAT, das Schrittmacherezym der Melatonin-Biosynthese in der Zirbeldrüse, unter prinzipieller β -adrenerger Kontrolle postsynaptischer sympathischer Nervenfasern steht, wurde überprüft, inwiefern es Hinweise auf eine Sympathikus-Stimulation bei Tieren mit Tumoren der Passage 2 als Ursache vermehrter Melatonin-Bildung geben würde. Zu diesem Zweck wurde die nächtliche Exkretion von Noradrenalin (NA) sowie Adrenalin (A) im Urin (23 bis 7 Uhr) als auch der Gehalt dieser beiden Catecholamine im mediobasalen Hypothalamus (MBH) bestimmt. Bei den tumortragenden Tieren zeigte sich eine selektive Erhöhung von NA bei unverändertem A, sowohl in der Urin-Ausscheidung (>200 %) als auch in seinem MBH-Gehalt, was als klarer Hinweis auf eine Erhöhung des Sympathikotonus zu werten ist. Im Plasma dieser Tiere wurde zudem eine Verzehnfachung der Konzentration des γ -Interferons gefunden, von dem bekannt ist, dass es die Produktion des Biopterins in Ratten-Makrophagen stimuliert und seinerseits im Verlauf T-Zell-abhängiger Immunostimulation als Reaktion auf die Erkennung von Oberflächenantigenen (Rammensee, 1996) gebildet wird (Bartsch C. et al., 1999; Bartsch C. und Bartsch H., 2006).

Zusammenfassend bedeuten diese Resultate, dass eine Erhöhung des Sympathikotonus aufgrund immunologischer Erkennungs- und Aktivierungsprozesse gegenüber Tumoren der Passage 2 erfolgt, höchstwahrscheinlich unter Beteiligung von durch T_H1-Zellen gebildetem Interleukin-2 (Baker et al., 1989; Bartsch C. et al., 1999; Bartsch C. und Bartsch H., 2006), und somit die Melatonin-Sekretion bei diesen Tieren verstärkt wird. Da eine Behandlung mit Melatonin zur Hemmung derartiger Tumore führt (Bartsch H. et al., 1994a, 1994b), kann die beobachtete Erhöhung der Melatonin-Sekretion als ein integraler Bestandteil kaskadenförmig-verstärkter Tumor-

abwehrmechanismen verstanden werden, in deren Verlauf die bereits angestoßenen T-Zell-abhängigen Abwehrprozesse gegenüber dem Tumor nochmals forciert werden.

Eine weitere zentrale Frage ist, wodurch es zur beobachteten Verminderung der Plasma-Tryptophan-Konzentration bei den Tieren mit den Tumorpässagen 2 und 12 kam. Als wahrscheinliche Ursache für die beobachtete Abnahme des Tryptophans kann eine massive Aktivierung der Nebennierenrinde im Verlauf einer allgemeinen Stressreaktion aufgrund des Krebswachstums gesehen werden: Tiere mit der Passage 2 zeigten eine Versechsfachung der nächtlichen Corticosteron-Exkretion, jene mit der Passage 12 eine Verdopplung (Bartsch C. et al., 1999). Da bekannt ist, dass die Tryptophan-2,3-dioxygenase (TDO) der Leber durch Glucocorticoide, wie das Corticosteron, induzierbar ist, kann daraus geschlossen werden, dass aufgrund der Krebswachstums-bedingten Nebennierenrinden-Aktivierung auf diesem Weg eine vermehrte hepatische Degradierung des Tryptophans resultierte. Dies führte bei Tieren der Passage 12 zu einer verminderten Melatonin-Sekretion durch die Zirbeldrüse, im Gegensatz zu Tieren mit Tumoren der Passage 2, bei denen eine parallele Erhöhung des Sympathikotonus aufgrund der erwähnten T-Zellaktivierung vorlag. Bei Tieren der Passage 12 führte die Erhöhung des Corticosterons weiterhin zur Hemmung immunologischer Abwehrmechanismen gegenüber dem Tumor, wie aus einer verminderten Biopterin-Ausscheidung ablesbar war (Bartsch C. et al., 1995a).

Diese Resultate verdeutlichen, dass maligne Tumore in Abhängigkeit von ihrer histopathologischen Beschaffenheit äußerst differenzielle Signalvorgänge innerhalb des neuroimmunoendokrinen Netzwerks inklusive des Pinealorgans auslösen können und auf diese Weise wahrscheinlich ihr eigenes Wachstum sowie ihre metastatische Streuung modulieren. Bei weiterer systematischer Erforschung dieser vielschichtigen Vorgänge ist es denkbar, dass neue Ansätze zur Diagnose und Therapie onkologischer Patienten entwickelt werden können, wozu es jene kritischen Punkte innerhalb der Signalkaskaden des Netzwerks zu definieren gilt, über die der vom Krebsgeschehen fehlgesteuerte Gesamtorganismus noch gegenregulierbar ist. Ob dabei auch in fortgeschrittenen Stadien das Melatonin eine mögliche therapeutische Bedeutung haben könnte (Bartsch C. et al., 1995b), wird im folgenden Abschnitt angesprochen.

Klinisch-therapeutische Versuche mit Melatonin bei Krebspatienten

Erste Therapieversuche

Im Jahr 1970 berichtete Starr über erste Therapieversuche mit Melatonin bei Patienten mit Osteosarcomen und behauptete bei Verwendung sehr hoher Dosen gute Resulta-

te erzielt zu haben, was von ihm jedoch durch Folgestudien nicht weiter belegt wurde. Seit Ende der 70er Jahre behandelte Luigi DiBella in Italien angeblich Tausende von Patienten mit den unterschiedlichsten Krebsarten, wobei er Melatonin mit Bromocryptin sowie Somatostatin und Retinoiden als Multitherapie kombinierte und behauptete, deutliche therapeutische Effekte erzielt zu haben. Diese gemäß des sogenannten „DiBella Regimes“ durchgeführten Studien wurden jedoch weitgehend unkontrolliert durchgeführt und bei ihrer retrospektiven Betrachtung kam man zum Schluss, dass bei fortgeschrittener Krebserkrankung keine ausreichende therapeutische Wirkung zu finden war (Italian Study Group for the Di Bella Multitherapy Trials, 1999).

Die Therapieversuche von Lissoni

Bis zum heutigen Tag gelten die umfangreichen klinisch-therapeutischen Versuche von Paolo Lissoni in Monza, Italien, als wegweisend, da er Hunderte von Krebspatienten mit meist fortgeschrittener Erkrankung, nachdem konventionelle Therapien versagt hatten, mit Melatonin behandelte und diese Untersuchungen detailliert dokumentierte und publizierte.

Zunächst versuchte er im Verlauf erster Phase II-Untersuchungen herauszufinden, ob unterschiedliche Krebserkrankungen fortgeschrittenen Stadiums, welche refraktär gegenüber sonstiger Behandlung waren, überhaupt durch Melatonin beeinflussbar sein würden (Lissoni et al., 1987, 1989). In einer Folgestudie injizierte er 54 Patienten 20 mg Melatonin täglich um 15 Uhr (Lissoni et al., 1991). Dabei verzeichnete er in einem Fall eine objektiv nachweisbare Hemmung des Tumorwachstums, in zwei weiteren Fälle war eine geringfügige Wirkung beobachtbar, während bei immerhin 20 Patienten eine Stabilisierung ihres Zustandes erfolgte. Daraus folgt, dass Melatonin zwar nicht in der Lage ist, den Verlauf fortgeschrittener maligner Erkrankung im Sinne üblicher Zytostatika-Therapien zu beeinflussen, jedoch gewann Lissoni, auch bei den späteren Studien, die Überzeugung, dass die Behandlung mit Melatonin zu einer allgemeinen Verbesserung der Lebensqualität seiner Patienten führte.

Behandlung von Tumorpatienten im Endstadium mit Melatonin

Durch diese ersten Ergebnisse erachtete Lissoni es als gerechtfertigt, Krebspatienten im Endstadium Melatonin zu verabreichen, wobei er dies zur Überprüfung eventuell objektivierbarer Effekte in randomisierter Form durchführte. Der eine Teil der Patienten erhielt sämtliche, in dieser Phase der Erkrankung noch mögliche, unterstützende medikamentöse Maßnahmen, sog. *best supportive care*, und der andere wurde zusätzlich noch mit Melato-

nin (10 bis 50 mg/Tag, nachmittäglich) behandelt. Auf diese Weise kam es bei 63 Patienten mit metastasierenden Bronchialcarcinomen unter zusätzlicher Melatonin-Behandlung zu einem erhöhten Anteil derjenigen, welche ein Jahr überlebten (23 % gegenüber nur 6 % in der Kontrollgruppe; Lissoni et al., 1992). Ebenso führte bei 30 Patienten mit inoperablen Glioblastomen die tägliche orale Gabe von 10 mg Melatonin in Kombination mit einer Bestrahlung des Gehirns zu einer Erhöhung der Anzahl der nach einem Jahr noch lebenden Patienten um 37 % gegenüber den ausschließlich bestrahlten Kontrollen (Lissoni et al., 1996). Auch bei 50 Patienten mit den unterschiedlichsten Tumoren, welche Hirnmetastasen gebildet hatten und Strahlentherapie erhielten, führte eine zusätzliche Gabe von Melatonin (20 mg täglich oral um 20 Uhr) zu einem signifikant erhöhten Anteil jener Patienten, die ein Jahr überlebten (37 % gegenüber 12 %) (Lissoni et al., 1994a). Bei zuvor behandelten Patientinnen mit metastasiertem Brustkrebs wurde die eine Untergruppe mit Tamoxifen behandelt, während die andere zusätzlich Melatonin erhielt (20 mg täglich oral um 20 Uhr). Wiederum zeigte sich auch hier, dass bei zusätzlicher Melatonin-Gabe noch signifikant mehr Patienten nach 12 Monaten lebten ($p < 0,01$; 63 % gegenüber 24 % der allein mit Tamoxifen behandelten; Lissoni et al., 1995a).

Kombinationstherapie von Melatonin mit Interleukin-2

Ein beträchtlicher Anteil der klinisch-therapeutischen Untersuchungen von Lissoni befasste sich mit der Kombinationstherapie von Melatonin mit Interleukin-2 (IL-2), welches zwar bei einigen Tumorarten recht gute Erfolge zeigte, jedoch immer mit nicht unerheblichen Nebenwirkungen verbunden war. Man erhoffte sich durch den Zusatz von Melatonin diese Problematik zu reduzieren und dadurch eine kontinuierlichere und somit effektivere Therapie zu gewährleisten.

Die Resultate der vorliegenden Studien scheinen diese Hoffnung zu bestätigen. Bei der Behandlung von insgesamt 80 Patienten, welche an diversen lokal fortgeschrittenen oder metastasierten soliden Tumoren litten, führte die Einbeziehung von Melatonin in die IL-2 Behandlung zu einer signifikant erhöhten Anzahl jener Patienten, welche nach einem Jahr noch lebten (46 % gegenüber 15 %, die nur IL-2 erhielten; Lissoni et al., 1994b). Auch in einer weiteren Studie an 100 Patienten mit metastasierenden soliden Tumoren zeigte Melatonin in Kombination mit IL-2 gegenüber palliativ behandelten Patienten einen deutlich erhöhten Anteil nach einem Jahr noch lebender Patienten (40 % gegenüber 10 %; $p < 0,005$; Lissoni et al., 1995b). In gleicher Weise führte eine Kombination von Melatonin mit IL-2 bei Patienten mit metastasiertem Colonicarcinom, welche nicht auf eine chemotherapeutische Behandlung reagiert hatten, ebenfalls zu einer vermehrten Anzahl von Patienten, welche

noch ein weiteres Jahr lebten (36 % gegenüber 12 % unter *supportive care alone*; $p < 0,05$) (Barni et al., 1995). Schließlich berichtete Lissoni (2001) über seine Behandlungserfolge bei insgesamt 320 Patienten mit verschiedenen Arten fortgeschrittener solider Tumore, denen man eine maximal sechsmonatige Lebenserwartung gegeben hatte. Diese Patienten hatten zuvor nicht auf diverse chemotherapeutische Maßnahmen reagiert oder es hatten sich auch keine sonstigen therapeutischen Ansatzpunkte ergeben. Die am meisten vorkommenden Krebsarten waren Tumore des Gastrointestinaltrakts sowie nicht-kleinzelliger Lungenkrebs. IL-2 wurde täglich zu je 3 Millionen IU abends sechs Tage pro Woche über vier Wochen verabreicht, wobei mit der Melatonin-Behandlung bereits sieben Tage vor IL-2 begonnen wurde und täglich 40 mg abends ohne weitere Unterbrechung verabreicht wurden. Ein zweiter IL-2 Zyklus wurde nach dreiwöchiger Pause begonnen; anschließend erfolgte die IL-2 Behandlung einmal monatlich über sieben Tage und wurde fortgeführt bis eine eventuelle Tumorprogression zu verzeichnen war. Bei 17 % der Patienten kam es zu einer subjektiven Tumoregression und 40 % der Patienten überlebten das erste Behandlungsjahr, trotz der anfänglich sehr schlechten Prognose. Da aus ethisch verständlichen Gründen diese Kombinations-Behandlung von IL-2 und Melatonin sämtlichen Patienten gegeben wurde, ist es aufgrund der fehlenden Kontrollgruppe nicht nachprüfbar, inwiefern die obigen Beobachtungen objektiv zutreffen. Lissoni erklärt sich die insgesamt ermutigenden Resultate bei der gemeinsamen Gabe von Melatonin und IL-2 damit, dass das Zirbeldrüsenhormon einigen der gravierenden Nebenwirkungen des IL-2, wie z. B. dem Blutdruckabfall, deutlich entgegenzuwirken vermag.

Weitere Therapieversuche von Krebspatienten mit Melatonin

Bisher hat es, abgesehen von Lissoni, nur recht wenige sonstige Therapieversuche mit Melatonin bei Krebspatienten gegeben, obwohl diese auch gemäß der Übersichtsarbeit von Hrushesky (2001) durchaus ermutigend sind und deshalb eine Fortführung rechtfertigen würden. Gleiches gilt auch für die Erfolge von Gonzalez et al. (1991) sowie Robinson et al. (1995), die insgesamt 40 Patienten mit metastasierten Melanomen mit Melatonin behandelten, indem sie das Zirbeldrüsenhormon alle sechs Stunden täglich für vier Wochen verabreichten und damit in 15 % ihrer Patienten eine deutlich nachweisbare Tumorverkleinerung um mindestens 50 % beobachteten. Auch Neri et al. (1994) erzielten bei der Behandlung ihrer 24 an metastasiertem Nierenkrebs erkrankten Patienten durch Melatonin in Kombination mit Interferon sehr ermutigende Resultate: bei drei Patienten zeigte sich eine vollständige und bei drei weiteren eine partielle Rückbildung des Tumors, was, gemäß Hrushesky (2001), durch eine The-

rapie allein mit Interferon hätte nicht erreicht werden können.

Aufgrund dieser insgesamt vielversprechenden Resultate ist zu hoffen, dass recht bald weitere klinisch-therapeutische Studien mit Melatonin durchgeführt bzw. veröffentlicht werden (Jung und Ahmad, 2006), wobei nicht allein fortgeschrittene oder gar terminale Stadien der Krebserkrankung behandelt werden sollten, sondern hochdifferenzierte Tumoren mit einer noch niedrigen Proliferationsrate, welche aufgrund der oben besprochenen *in vivo*- und *in vitro*-Versuche besonders gut durch Melatonin hemmbar sein sollten. Aus diesem Grund wäre erwägenswert, ob Melatonin nicht in Kombination mit etablierten Therapieansätzen bei Krebspatienten früher Erkrankungsstadien zur Optimierung der Behandlungserfolge gegeben werden könnte.

Zusammenfassung und Ausblick

Da Pinealektomie das Wachstum und die Ausbreitung experimenteller Tumoren fördert und andererseits wässrige Pinealextrakte anti-neoplastische Wirkungen besitzen, ist es wichtig, den Stellenwert des Melatonins in der Beziehung zwischen Zirbeldrüse und Krebs genau zu definieren. Zu diesem Zweck werden in der vorliegenden Übersichtsarbeit die wissenschaftliche Literatur sowie eigene Arbeiten referiert, wobei zunächst experimentell-therapeutische Versuche behandelt werden, um danach auf die mögliche Bedeutung des Melatonins für die Ätiologie menschlicher Krebserkrankungen einzugehen. In jüngster Zeit verdichten sich Hinweise darauf, dass eine langjährige Störung des Melatonin-Rhythmus durch Kunstlicht bei Nacht- und Wechselschichtarbeitern sowie durch chronischen *jet lag* bei Stewardessen und Piloten zur vermehrten Entstehung von Krebs führt. Die Ursache dafür könnte darin liegen, dass Melatonin die Krebsinitiation hemmt und anti-promotorisch wirkt, wenn noch relativ gut differenzierte und langsam wachsende maligne Zellen vorhanden sind. Demgegenüber vermag unter experimentellen Bedingungen das Zirbeldrüsenhormon fortgeschrittenes Krebswachstum nur schlecht zu hemmen, im Gegensatz zu niedermolekularen wässrigen Pinealextrakten, welche chemisch noch nicht identifizierte anti-neoplastische Substanzen enthalten.

In dieser Übersicht wird weiterhin auf klinisch-therapeutische Versuche zur Wirkung des Melatonins bei Patienten mit zumeist fortgeschrittener Erkrankung eingegangen. Erstaunlich ist, dass auch hier Melatonin zu deutlichen therapeutischen Erfolgen führt, welche nicht allein durch eine verbesserte Lebenserwartung, sondern auch Lebensqualität charakterisiert sind. Diese aufgrund der therapeutisch-experimentellen Vorarbeiten überraschenden Resultate sind wahrscheinlich durch komplexe Wechselwirkungen mit dem neuroimmunoendokrinen Netzwerk erklärbar.

Klinisch-diagnostische sowie analytisch-experimentelle Untersuchungen zeigen, dass zirkulierendes Melatonin unter Beteiligung neuroimmunoendokriner Mechanismen im Verlauf des Krebswachstums sowie dessen metastatischer Ausbreitung aufgrund veränderter Sekretion durch die Zirbeldrüse starken Veränderungen unterliegt. Dabei kommt es während früher Phasen aufgrund immunologischer Erkennungsprozesse und damit verbundener Sympathikus-Aktivierung zu einer erhöhten Melatonin-Sekretion, was als Versuch zur Hemmung der Tumoretablierung angesehen werden kann. Parallel zum Größenwachstum des Primärtumors erfolgt eine Aktivierung der Nebennierenrinde, wodurch Teile des Immunsystems gehemmt werden und ein vermehrter Tryptophan-Abbau resultiert, was bei gleichzeitig schwindender Sympathikus-Aktivierung zu verminderter Melatonin-Sekretion führt. Infolge der reduzierten Verfügbarkeit des Melatonins kommt es zu weiteren Ungleichgewichten, wie z. B. der Störung zentraler endokriner Rhythmik, welche ihrerseits wieder die Progression der malignen Erkrankung, insbesondere die Metastasierung, fördern dürfte. Inwiefern eine substitutive Gabe von Melatonin in dieser Situation noch korrigierend wirken könnte, bliebe zu untersuchen.

Aufgrund der gegenwärtigen Datenlage erscheint die primäre Funktion des Melatonins darin zu bestehen, als endogener Schutzfaktor gegenüber der Krebsentstehung zu fungieren, während die noch unbekannt niedermolekularen anti-neoplastischen Substanzen der Zirbeldrüse auch zu späteren Phasen der Krebserkrankung therapeutisch wirksam sein könnten. Wegen einer möglichen intrapinealen Steuerung dieser Substanzen durch Melatonin muss bei fortschreitender Hemmung seiner Biosynthese von einer nicht mehr adäquaten Bildung anti-neoplastischer Pinealsubstanzen ausgegangen werden, wodurch die Krebserkrankung ungehemmt ihren weiteren fatalen Lauf nehmen kann. Um in dieser Situation vielleicht dennoch effektiv eingreifen zu können, sollten derartige Pinealsubstanzen nach ihrer chemischen Identifizierung in synthetischer Form versuchsweise Patienten mit weit fortgeschrittener Erkrankung gegeben werden.

Danksagung

Die folgenden Abbildungen wurden mit freundlicher Genehmigung aufgeführter Verlage wiedergegeben und entstammen den zitierten Publikationen: Abb. 1: Springer-Verlag, Wien; Bartsch H. und Bartsch C. (1981) *J Neural Transm* 52:269–279. Abb. 2 und 3: Springer Science and Business Media, Dordrecht, NL; Bartsch C. und Bartsch H. (2006) *Cancer Causes and Control* 17:559–571. Abb. 8: John Wiley & Sons, Hoboken, NJ, USA; Bartsch C. et al. (1989) *Cancer* 64:426–433. Abb. 9–11: Taylor & Francis, London, UK; Bartsch C. et al. (1998) *The Aging Male* 1:188–199. Abb. 12 und 13: Karger-Verlag, Basel, Schweiz; Bartsch C. et al. (1995) *Oncology* 52:278–283 bzw. Bartsch C. et al. (1999) *Oncology* 56:169–176.

Literatur

- Altieri A, Sorrentino F. 1956. Eine neue Hormontherapie des Prostatakrebses. Die Epiphysenextrakte. *Urologia Internat* (Basel) 2:312–350.
- Baker H, Marcus SL, Frank O, Petrylak DP, DeAngelis B, Dutcher JP, Wiernik PH. 1989. Interleukin-2 enhances biopterins and catecholamines production during adoptive immunotherapy for various cancers. *Cancer* 64:1226–1231.
- Bardos TJ, Gordon HL, Chmielewicz ZF, Kutz RL, Nadkarni MV. 1968. A systematic investigation of the presence of growth-inhibitory substances in animal tissues. *Cancer Res* 28:1620–1630.
- Barni S, Lissoni P, Cazzaniga M, Ardizzoia A, Merregalli S, Fosati V, Fumagalli L, Brivio F, Tancini G. 1995. A randomized study of low-dose subcutaneous interleukin-2 plus melatonin versus supportive care alone in metastatic colorectal cancer patients progressing under 5-fluorouracil and folates. *Oncology* 52:243–245.
- Barone RM, Abe R, Das Gupta TK. 1972. Pineal ablation in methylcholanthrene induced fibrosarcoma. *Surg Forum* 23:115–116.
- Barone RM, Das Gupta TK. 1970. Role of pinealectomy on Walker 256 Carcinoma in rats. *J Surg Oncol* 2:313–322.
- Bartsch C. 1979. Diskussionsbeitrag: Lapin V. Pineal influence on tumor. *Prog Brain Res* 52:533.
- Bartsch C, Bartsch H. 1988. Melatonin in human cancer patients. In: Gupta D, Attanasio A, Reiter RJ. (eds.) *The Pineal Gland and Cancer*. London: Brain Research Promotion, pp. 361–368.
- Bartsch C, Bartsch H. 1994. Melatonin secretion in oncological patients: current results and methodological considerations. In: Maestroni GJM, Conti A, Reiter RJ. (eds), *Adv Pineal Res* 7. London: John Libbey, pp. 283–301.
- Bartsch C, Bartsch H. 1997. Modulation of melatonin secretion in cancer patients: possible mechanisms and significance for prognosis, diagnosis and treatment. In: Maestroni GJM, Conti A, Reiter RJ. (eds) *Therapeutic Potential of Melatonin*. Front Horm Res, 23. Basel: Karger, pp. 115–124.
- Bartsch C, Bartsch H. 2006. The anti-tumor activity of pineal melatonin and cancer enhancing life styles in industrialized societies. *Cancer Causes Control* 17:559–571.
- Bartsch C, Bartsch H, Bellmann O, Lippert TH. 1991. Depression of serum melatonin in patients with primary breast cancer is not due to an increased peripheral metabolism. *Cancer* 67:1681–1684.
- Bartsch C, Bartsch H, Bichler KH, Flüchter SH. 1998. Prostate cancer and tumour stage-dependent circadian neuroendocrine disturbances. *Aging Male* 1:188–199.
- Bartsch C, Bartsch H, Buchberger A, Rokos H, Mecke D, Lippert TH. 1995a. Serial transplants of DMBA-induced mammary tumors in Fischer rats as model system for human breast cancer. IV. Parallel changes of biopterin and melatonin indicate interactions between the pineal gland and cellular immunity in malignancy. *Oncology* 52:278–283.
- Bartsch C, Bartsch H, Buchberger A, Stieglitz A, Effenberger-Klein A, Kruse-Jarres JD, Besenthal I, Rokos H, Mecke D. 1999. Serial transplants of DMBA-induced mammary tumors in Fischer rats as a model system for human breast cancer. VI. The role of different forms of tumor-associated stress for the regulation of pineal melatonin secretion. *Oncology* 56:169–176.

- Bartsch C, Bartsch H, Buchberger A, Stieglitz A, Mecke D, Lippert TH. 1994a. Serial transplants of DMBA-induced mammary tumors in Fischer rats as model system for human breast cancer: II. Analysis of pineal melatonin biosynthesis and secretion. In: Møller M, Pévet P. (eds.), *Adv Pineal Res* 8. London: John Libbey, pp. 479–484.
- Bartsch C, Bartsch H, Flüchter SH, Attanasio A, Gupta D. 1985. Evidence for modulation of melatonin secretion in men with benign and malignant tumours of the prostate: relationship with the pituitary hormones. *J Pineal Res* 2:121–132.
- Bartsch C, Bartsch H, Flüchter SH, Attanasio A, Gupta D. 1986. Melatonin rhythms in prostate cancer patients: effect of operation and hormone treatment. *J Neural Transm (Suppl 21)*:491.
- Bartsch C, Bartsch H, Flüchter SH, Harzmann R, Attanasio A, Bichler KH, Gupta D. 1983. Circadian rhythms of serum melatonin, prolactin and growth hormone in patients with benign and malignant tumours of the prostate and in nontumour controls. *Neuroendocrinol Lett* 5:377–386.
- Bartsch C, Bartsch H, Flüchter SH, Mecke D, Lippert TH. 1994b. Diminished pineal function coincides with disturbed circadian endocrine rhythmicity in untreated primary cancer patients. Consequence of premature aging or of tumour growth? *Ann NY Acad Sci* 719:502–525.
- Bartsch C, Bartsch H, Fuchs U, Lippert TH, Bellmann O, Gupta D. 1989. Stage-dependent depression of melatonin in patients with primary breast cancer. Correlation with prolactin, thyroid stimulating hormone, and steroid receptors. *Cancer* 64:426–433.
- Bartsch C, Bartsch H, Gupta D. 1990a. Pineal melatonin synthesis and secretion during induction and growth of mammary cancer in female rats. In: Gupta D, Wollmann HA, Ranke MB. (eds.), *Neuroendocrinology: New Frontiers*. London: Brain Research Promotion, pp. 326–332.
- Bartsch C, Bartsch H, Jain AK, Laumas KR, Wetterberg L. 1981. Urinary melatonin levels in human breast cancer patients. *J Neural Transm.* 52:281–294.
- Bartsch C, Bartsch H, Karasek M. 2002. Melatonin in clinical oncology. *Neuroendocrinol Lett* 23 (Suppl 1):30–38.
- Bartsch C, Bartsch H, Karenovics A, Franz H, Peiker G, Mecke D. 1997. Nocturnal urinary 6-sulphatoxymelatonin excretion is decreased in primary breast cancer patients compared to age-matched controls and shows negative correlation with tumour size. *J Pineal Res* 23:53–58.
- Bartsch C, Bartsch H, Lippert TH. 1995b. Rationales to consider the use of melatonin as a chrono-oncotherapeutic drug. In *vivo* 9:305–310.
- Bartsch C, Bartsch H, Lippert TH, Gupta D. 1990b. Effect of the mammary carcinogen 7,12-dimethylbenz[a]anthracene on pineal melatonin biosynthesis, secretion, and peripheral metabolism. *Neuroendocrinology* 52:538–544.
- Bartsch C, Bartsch H, Lippert TH, Gupta D. 1990c. Effect of the mammary carcinogen 7,12-dimethylbenz(a)anthracene on pineal melatonin biosynthesis, secretion, and peripheral metabolism. *Neuroendocrinology* 52:538–544.
- Bartsch C, Bartsch H, Schmidt A, Ilg S, Bichler K-H, Flüchter SH. 1992. Melatonin and 6-sulfatoxymelatonin circadian rhythms in serum and urine of primary prostate cancer patients: evidence for reduced pineal activity and relevance of urinary determinations. *Clin Chim Acta* 209:153–167.
- Bartsch C, Praast G, Peters C, Bartsch H, Mecke D, Lippert TH. 1993. The hepatic metabolism of melatonin in the rat: phenobarbital and polyaromatic hydrocarbons are inducers of the hydroxylation of melatonin. In: Touitou Y, Arendt J, Pévet P. (eds.) *Melatonin and the Pineal Gland – from Basic Science to Clinical Applications*. Amsterdam: Elsevier, pp. 317–320.
- Bartsch C, Szadowska A, Karasek M, Bartsch H, Geppert M, Mecke D. 2000. Serial transplants of DMBA-induced mammary tumors in Fischer rats as model system for human breast cancer: V. Myoepithelial-mesenchymal conversion during passaging as possible cause for modulation of pineal-tumor interaction. *Exp Toxic Pathol* 52:93–101.
- Bartsch H. 1988. Untersuchungen zur Antitumorwirkung der Zirbeldrüse. Dissertation an der Fakultät für Chemie und Pharmazie der Universität Tübingen.
- Bartsch H, Bartsch C. 1981. Effect of melatonin on experimental tumors under different photoperiods and times of administration. *J Neural Transm* 52:269–279.
- Bartsch H, Bartsch C. 1988. Unidentified pineal substances with anti-tumor activity. In: Gupta D, Attanasio A, Reiter RJ. (eds.), *The Pineal Gland and Cancer*. London: Brain Research Promotion, pp. 369–376.
- Bartsch H, Bartsch C. 1993. Anti-tumor activity in pineal glands and in urine display similar circannual rhythmicity. In: Guttenbrunner C, Hildebrandt G, Moog R. (eds.), *Chronobiology and Chronomedicine, Basic Research and Applications*. Frankfurt: Peter Lang-Verlag, pp. 390–395.
- Bartsch H, Bartsch C, Deerberg F, Mecke D. 2001b. Seasonal rhythms of 6-sulphatoxymelatonin (aMT6s) excretion in female rats are abolished by growth of malignant tumors. *J Pineal Res* 31:57–61.
- Bartsch H, Bartsch C, Deerberg F, Pohlmeier G, Lippert TH, Mecke D. 1996. Preventive action of melatonin on the development of spontaneous endometrial carcinomas in BDII/Han rats. 7th European Pineal Society Colloquium, Sitges, Spain, p. 103.
- Bartsch H, Bartsch C, Flehmig B. 1986. Differential effect of melatonin on slow and fast growing passages of a human melanoma cell line. *Neuroendocrinol Lett* 8:289–293.
- Bartsch H, Bartsch C, Flehmig B. 1987b. Pineal anti-tumor activity (PATA) of rats under different physiological conditions. In: Trentini GP, DeGaetani C, Pévet P. (eds.), *Fundamentals and Clinics in Pineal Research*. New York: Raven Press, pp. 381–384.
- Bartsch H, Bartsch C, Gupta D. 1990a. Seasonal variations of endogenous defence mechanisms against cancer. In: Gupta D, Wollmann HA, Ranke MB. (eds.), *Neuroendocrinology: New Frontiers*. London: Brain Research Promotion, pp. 333–339.
- Bartsch H, Bartsch C, Gupta D. 1990b. Tumor-inhibiting activity in the rat pineal gland displays a circannual rhythm. *J Pineal Res* 9:171–178.
- Bartsch H, Bartsch C, Lippert TH. 1991. Melatonin und chronobiologische Aspekte von Krebs. *Münch med Wschr* 133:113–116.
- Bartsch H, Bartsch C, Mecke D. 2001a. The modulation of melatonin in tumor-bearing animals: underlying mechanisms and possible significance for prognosis. In: Bartsch C, Bartsch H, Cardinali DP, Hrushesky WJM, Mecke D. (eds.), *The Pineal Gland and Cancer: Neuroimmunoendocrine Mechanisms in Malignancy*. Berlin: Springer-Verlag, pp. 197–209.
- Bartsch H, Bartsch C, Mecke D, Lippert TH. 1993. The relationship between the pineal gland and cancer: seasonal aspects. In: Wetterberg L. (ed.), *Light and Biological Rhythms in Man*. Oxford: Pergamon Press. pp. 337–347.

- Bartsch H, Bartsch C, Mecke D, Lippert TH. 1994a. Differential effect of melatonin on early and advanced passages of a DMBA-induced mammary carcinoma in the female rat. In: Maestroni GJM, Conti A, Reiter RJ. (eds.), *Adv Pineal Res* 7, London: John Libbey, pp. 247–252.
- Bartsch H, Bartsch C, Mecke D, Lippert TH. 1994b. Serial transplants of DMBA-induced mammary tumors in Fischer rats as model system for human breast cancer: I. Effect of melatonin and pineal extracts on slow- and fast-growing passages – in vivo and in vitro studies. In: Møller M, Pévet P. (eds.), *Adv Pineal Res* 8, London: John Libbey, pp. 473–478.
- Bartsch H, Bartsch C, Mecke D, Lippert TH. 1994c. Seasonality of pineal melatonin production in the rat: possible synchronization by the geomagnetic field. *Chronobiol Int* 11:21–26.
- Bartsch H, Bartsch C, Noteborn HPJM, Flehmig B, Ebels I, Saleminck CA. 1987a. Growth-inhibiting effect of crude pineal extracts on human melanoma cells in vitro is different from that of known synthetic pineal substances. *J Neural Transm* 69:299–311.
- Bartsch H, Bartsch C, Seebald E, Deerberg F, Dietz K, Vollrath L, Mecke D. 2002. Chronic exposure to a GSM-like signal (mobile phone) does not stimulate the development of DMBA-induced mammary tumors in rats: results of three consecutive studies. *Radiat Res* 157:183–190.
- Bartsch H, Bartsch C, Simon WE, Flehmig B, Ebels I, Lippert TH. 1992. Antitumor activity of the pineal gland: effect of unidentified substances versus the effect of melatonin. *Oncology* 49:27–30.
- Bartsch H, Buchberger A, Franz H, Bartsch C, Maidonis I, Mecke D, Bayer E. 2000. Effect of melatonin and pineal extracts on human ovarian and mammary tumor cells in a chemosensitivity assay. *Life Sci* 67:2953–2960.
- Bergmann W, Engel P. 1950. Über den Einfluß von Zirbelextrakten auf Tumoren bei weißen Mäusen und bei Menschen. *Wien. Klin. Wschr* 62:79–82.
- Berwick M, Wiggins C. 2006. The current epidemiology of cutaneous malignant melanoma. *Front Biosci* 11:1244–1254.
- Bibus B. 1957. Der heutige Stand der Behandlung des Prostata-Carzinoms. *Dtsch Med J.* 11:560–563.
- Bindoni M. 1971. Relationship between the pineal gland and the mitotic activity of some tissues. *Arch Sci Biol* 55:3–21.
- Bindoni M, Bava A, Stanzani S. 1973. Mitotic rate in glandular tubes in small intestine after lesions at different loci of hypothalamus in the rat. *ICRS* 1:16.
- Bindoni M, Belluardo N, Licciardello S, Marchese AE, Cicirata F. 1980. Growth of Yoshida ascites tumour in the rat after radiofrequency destruction of the tuberoinfundibular region of the hypothalamus. *Neuroendocrinology* 30:88–93.
- Bindoni M, Belluardo N, Marchese AE, Cardile V, Mudo G, Cella S, Laguidara A, Denatale G. 1986. Increased tumor cell multiplication after radiofrequency lesions in median hypothalamus in the mouse and rat. *Neuroendocrinology* 42:407–415.
- Bindoni M, Jutisz M, Ribot G. 1976. Characterization and partial purification of a substance in the pineal gland which inhibits cell multiplication in vitro. *Biochim Biophys Acta* 437:577–588.
- Blask DE. 1993. Melatonin in oncology. In: Yu HS, Reiter RJ. (eds.), *Melatonin, Biosynthesis, Physiological Effects and Clinical Applications*. Boca Raton: CRC Press, pp. 447–475.
- Blask DE. 2001. An overview of the neuroendocrine regulation of experimental tumor growth by melatonin and its analogues and the therapeutic use of melatonin in oncology. In: Bartsch C, Bartsch H, Cardinali DP, Hrushesky WJM, Mecke D. (eds.), *The Pineal Gland and Cancer: Neuroimmunoendocrine Mechanisms in Malignancy*. Berlin: Springer-Verlag, pp. 309–342.
- Blask DE, Brainard GC, Dauchy RT, Hanifin JP, Davidson LK, Krause JA, Sauer LA, Rivera-Bermudez MA, Dubocovich ML, Jasser SA, Lynch DT, Rollag MD, Zalatan F. 2005. Melatonin-depleted blood from premenopausal women exposed to light at night stimulates growth of human breast cancer xenografts in nude rats. *Cancer Res* 65:11174–11184.
- Blask DE, Dauchy RT, Sauer LA, Krause JA, Brainard GC. 2003. Growth and fatty acid metabolism of human breast cancer (MCF-7) xenografts in nude rats: impact of constant light-induced nocturnal melatonin suppression. *Breast Cancer Res Treat* 79:313–320.
- Blask DE, Pelletier DB, Hill SM, Lemus-Wilson A, Grosso DS, Wilson SR, Wise ME. 1991. Pineal melatonin inhibition of tumor promotion in the N-nitroso-N-methylurea model of mammary carcinogenesis: potential involvement of antiestrogenic mechanisms in vivo. *J Cancer Res Clin Oncol* 117:526–532.
- Blask DE, Wilson ST, Zalatan F. 1997. Physiological melatonin inhibition of human breast cancer cell growth in vitro: Evidence for a glutathione-mediated pathway. *Cancer Res* 57:1909–1914.
- Brainard GC, Lewy AJ, Menaker M, Fredrickson RH, Miller LS, Weleber RG, Cassone V, Hudson D. 1988. Dose-response relationship between light irradiance and the suppression of plasma melatonin in human volunteers. *Brain Res* 454:212–218.
- Bulian D, Pierpaoli W. 2000. The pineal gland and cancer – I. Pinelectomy corrects congenital hormonal dysfunctions and prolongs life of cancer-prone C3H/He mice. *J Neuroimmunol* 108:131–135.
- Buzzell GR, Amerongen HM, Toma JG. 1988. Melatonin and the growth of the Dunning R 3327 rat prostatic adenocarcinoma. In: Gupta D, Attanasio A, Reiter RJ. (eds.), *The Pineal Gland and Cancer*. London: Brain Research Promotion, pp. 295–306.
- Cagnacci A. 1997. Influences of melatonin on human circadian rhythms. *Chronobiol Int* 14:205–220.
- Cardinali DP, Cutrera RA, Brusco LL. 2001. The role of melatonin in the neuroendocrine system: multiplicity of sites and mechanism of action. In: Bartsch C, Bartsch H, Blask DE, Cardinali DP, Hrushesky WJM, Mecke D. (eds.), *The Pineal Gland and Cancer: Neuroimmunoendocrine Mechanisms in Malignancy*. Berlin: Springer-Verlag, pp. 50–65.
- Catrina SB, Catrina AI, Sirzen F, Griffiths W, Bergman T, Biberfeld P, Coculescu M, Mutt V. 1999. A cytotoxic, apoptotic, low-molecular weight factor from pineal gland. *Life Sci* 65:1047–1057.
- Catrina SB, Curca E, Catrina AI, Radu, C, Coculescu M. 2001. Melatonin shortens the survival rate of Ehrlich Ascites inoculated mice. *Neuroendocrinol Lett* 22:432–434.
- Conti A, Haran-Ghera N, Maestroni GJM. 1992. Role of pineal melatonin and melatonin-induced opioids in murine leukemogenesis. *Med Oncol Tumor Pharmacother* 9:87–92.
- Cos S, Alvarez A, Mediavilla A, Bartsch C, Bartsch H, Sanchez-Barcelo EJ. 2000. Influence of serum from healthy or breast tumor-bearing women on the growth of MCF-7 human breast cancer cells. *Int J Mol Med* 5:651–656.
- Cos S, Sanchez-Barcelo EJ. 2001. In vitro effects of melatonin on tumor cells. In: Bartsch C, Bartsch H, Blask DE, Cardinali DP, Hrushesky WJM, Mecke D. (eds.), *The Pineal Gland and Cancer: Neuroimmunoendocrine Mechanisms in Malignancy*. Berlin: Springer-Verlag, pp. 221–239.

- Dai J, Ram PT, Yuan L, Spriggs LL, Hill SM. 2001. Transcriptional repression of ROR α activity in human breast cancer cells by melatonin. *Mol Cell Endocrinol* 176:111–120.
- Dandachi N, Hauser-Kronberger C, More E, Wiesener B, Hacker GW, Dietze O, Wirl G. 2001. Co-expression of tenascin C and vimentin in human breast cancer cells indicates phenotypic transdifferentiation during tumour progression: correlation with histopathological parameters, hormone receptors, and oncoproteins. *J Pathol* 193:181–189.
- Danforth DN, Tamarkin L, Lippman M. 1984. Melatonin induction of oestrogen receptor hormone binding activity is associated with inhibition of E2-stimulated growth of MCF-7 human breast cancer cells. *Int Cong Endocrinol* 494: 507.
- Danforth DN Jr., Tamarkin L, Mulvihill JJ, Bagley CS, Lippman ME. 1985. Plasma melatonin and the hormone-dependency of human breast cancer. *J Clin Oncol* 3:941–948.
- Davis S, Mirick DK, Stevens RG. 2001. Night shift work, light at night, and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 93:1557–1562.
- Deerberg F, Bartsch C, Pohlmeier G, Bartsch H. 1997. Effect of melatonin and physiological epiphysectomy on the development of spontaneous endometrial carcinoma in BDII/Han rats. *Cancer Biotherapy* 12:420.
- Deerberg F, Kaspereit J. 1987. Endometrial carcinoma in BDII/Han rats: a model of a spontaneous hormone-dependent tumor. *J Natl Cancer Inst* 78:1245–1251.
- Deerberg F, Pohlmeier G, Lörcher K, Petrow V. 1995. Total suppression of spontaneous endometrial carcinoma in BDII/Han rats by melengestrol acetate. *Oncology* 52:319–325.
- DeJonage-Canonico MB, Lenoir V, Martin A, Scholler R, Kerdelhue B. 2003. Long-term inhibition by estradiol or progesterone of melatonin secretion after administration of a mammary carcinogen, the dimethylbenz(a)anthracene, in Sprague-Dawley female rat; inhibitory effect of melatonin on mammary carcinogenesis. *Breast Cancer Res Treat* 79: 365–377.
- Delyukov A, Gorgo Y, Cornelissen G, Otsuka K, Halberg F. 2001. Natural environmental associations in a 50-day human electrocardiogram. *Int J Biometeorol* 45:90–99.
- Dillon DC, Easley SE, Asch BB. 2002. Differential expression of high-affinity melatonin receptors (MT1) in normal and malignant human breast tissue. *Am J Clin Pathol* 118:451–458.
- Dilman VM, Anisimov VN, Ostroumova MN, Morozova VG, Khavinson VK, Azarova MA. 1979. Study of anti-tumor effect of polypeptide pineal extract. *Oncology* 36:274–280.
- Dubrov AP. 1974. *The geomagnetic field and life: Geomagnetobiology*. New York: Plenum Press.
- Ebels I, Noteborn HPJM, Bartsch H, Bartsch C. 1988. Effects of low molecular weight compounds on neoplastic growth. In: Gupta D, Attanasio A, Reiter RJ. (eds.), *The Pineal Gland and Cancer*. Tübingen: Brain Research Promotion, pp. 261–272.
- Engel P. 1935. Wachstumsbeeinflussende Hormone und Tumorstoffwechsel. *Z Krebsforsch* 41:488–496.
- Engel P, Bergmann W. 1952. Die physiologische Funktion der Zirbeldrüse und ihre therapeutische Anwendung. *Zeitschrift Vitamin-, Hormon- u Fermentforschung* VI(6):564–594.
- Enrietto PJ, Beug H. 1994. *Oncogenes and differentiation*. *Semin Cancer Biol* 5(2), London: Academic Press.
- Facciola G, Hidestrand M, von Bahr C, Tybring G. 2001. Cytochrome P-450 isoforms involved in melatonin metabolism in human liver microsomes. *Eur J Clin Pharmacol* 56:881–888.
- Felsher DW. 2004. *Oncogenes as therapeutic targets*. *Semin Cancer Biol* 14(1), London: Academic Press.
- Feychting M, Osterlund B, Ahlbom A. 1998. Reduced cancer incidence among the blind. *Epidemiology* 9:490–494.
- Filipski E, Delaunay F, King VM, Ma MW, Claustrat B, Grechez-Cassiau A, Guettier C, Hastings MH, Levi F. 2004. Effects of chronic jet lag on tumor progression in mice. *Cancer Res* 64:7879–7885.
- Filipski E, Li XM, Levi F. 2006. Disruption of circadian organization and malignant growth. *Cancer Causes Control* 17: 509–514.
- Gauer F, Masson-Pevet M, Skene DJ, Vivien-Roels B, Pevet P. 1993. Daily rhythms of melatonin binding sites in the rat pars tuberalis and suprachiasmatic nuclei; evidence for a regulation of melatonin receptors by melatonin itself. *Neuroendocrinology* 57:120–126.
- Girgert R, Bartsch C, Hill SM, Kreienberg R, Hanf V. 2003. Tracking the elusive antiestrogenic effect of melatonin: a new methodological approach. *Neuroendocrinol Lett* 24:440–444.
- Gonzalez R, Sanchez A, Ferguson JA, Balmer C, Daniel C, Cohn A, Robinson WA. 1991. Melatonin therapy of advanced human malignant melanoma. *Melanoma Res* 1:237–243.
- Greenberg MR. 1983. Urbanization and cancer: changing mortality patterns. *Int Reg Sci Rev* 8:127–145.
- Grin W, Grünberger W. 1998. A significant correlation between melatonin deficiency and endometrial cancer. *Gynecol Obstet Invest* 45:62–65.
- Guerrero JM, Reiter RJ. 2002. Melatonin-immune system relationships. *Curr Top Med Chem* 2:167–179.
- Hankinson SE. 2005. Endogenous hormones and risk of breast cancer in postmenopausal women. *Breast Dis* 24:3–15.
- L'Hermite-Balériaux M, de Launoit Y. 1992. Is melatonin really an in vitro inhibitor of human breast cancer cell proliferation? *In Vitro Cell Dev Biol* 28A:583–584.
- Herxheimer A, Petrie KJ. 2002. Melatonin for the prevention and treatment of jet lag. *Cochrane Database Syst Rev* 2: CD0011520.
- Hill SM, Blask DE. 1988. Effects of the pineal hormone melatonin on the proliferation and morphological characteristics of human breast cancer cells (MCF-7) in culture. *Cancer Res* 48:6121–6126.
- Hoffmann G, Pollow K, Kreienberg R, Hütz R, Schaffrath M, Strittmatter H-J, Weickel W, Pollow B. 1996. 24-h-Melatonin-Serumprofile bei Mammakarzinom-Patientinnen im Vergleich zu einer tumorfreien Kontrollgruppe. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 56:589–595.
- Hofstätter R. 1959. Versuche der postoperativen Krebsbehandlung mit Zirbelstoffen. *Krebsarzt* 14:307–316.
- Hrushesky WJM. 2001. Melatonin cancer therapy. In: *The Pineal Gland and Cancer: Neuroimmunoendocrine Mechanisms in Malignancy*. Bartsch C, Bartsch H, Blask DE, Cardinali DP, Hrushesky WJM, Mecke D. (eds.), Berlin: Springer-Verlag, pp. 476–508.
- Huggins C. 1965. Two principles in endocrine therapy of cancers: hormone deprivation and hormone interference. *Cancer Res* 25:1163–1167.
- Huggins C, Briziarelli G, Sutton H. 1959. Rapid induction of mammary carcinoma in the rat and the influence of hormones on the tumors. *J Exp Med* 109:25–42.
- Huggins C, Grand LC, Brillantes FP. 1961. Mammary cancer induced by a single feeding of polynuclear hydrocarbons and its suppression. *Nature* 189:204–207.

- Italian Study Group for the Di Bella Multitherapy Trials (1999) Evaluation of an unconventional cancer treatment (the Di Bella multitherapy): results of phase II trials in Italy. *BMJ* 18: 224–228.
- Jenkins J. 1994. Tumor suppressor genes. *Semin Cancer Biol* 5(3), London: Academic Press.
- Jones RL, McGeer PL, Greiner AC. 1969. Metabolism of exogenous melatonin in schizophrenic and non-schizophrenic volunteers. *Clin Chim Acta* 26:281–285.
- Jung B, Ahmad N. 2006. Melatonin in cancer management: progress and promise. *Cancer Res* 66:9789–9793.
- Kang Y, Massague J. 2004. Epithelial-mesenchymal transitions: twist in development and metastasis. *Cell* 118:277–279.
- Kanishi Y, Kobayashi Y, Noda S. 2000. Differential growth inhibitory effect of melatonin on two endometrial cancer cell lines. *J Pineal Res* 28:227–233.
- Karasek M, Dec W, Kowalski AJ, Bartsch H, Bartsch C. 1996. Serum melatonin circadian profile in women with adenocarcinoma of uterine corpus. *Int J Thymology* 4 (Suppl):80–83.
- Karasek M, Kowalski AJ, Zylinska K. 2000. Serum melatonin circadian profiles in women suffering from the genital tract cancers. *Neuroendocrinol Lett* 21:109–113.
- Karasek M, Kunert-Radek J, Stepień H, Pawlikowski M. 1988. Melatonin inhibits the proliferation of estrogen-induced rat pituitary tumor cells *in vitro*. *Neuroendocrinol Lett* 10:135–140.
- Kerenyi NA, Pandula E, Feuer G. 1990. Why the incidence of cancer is increasing: the role of “light pollution”. *Med. Hypotheses* 33:75–78.
- Khoory R, Stemme D. 1988. Plasma melatonin levels in patients suffering from colorectal carcinoma. *J Pineal Res* 5:251–258.
- Kopin IJ, Pare CMB, Axelrod J. 1961. The fate of melatonin in animals. *J Biol Chem* 236:3072–3075.
- Kothari L, Subramanian A. 1992. A possible modulatory influence of melatonin on representative phase I and II drug metabolizing enzymes in 9,10-dimethylbenzanthracene induced rat mammary tumorigenesis. *Anticancer Drugs* 3:623–628.
- Kubo T, Ozasa K, Mikami K, Wakai K, Fujino Y, Watanabe Y, Miki T, Nakao M, Hayashi K, Suzuki K, Mori M, Washio M, Sakauchi F, Ito Y, Yoshimura T, Tamakoshi A. 2006. Prospective cohort study of the risk of prostate cancer among rotating-shift workers: findings from the Japan collaborative cohort study. *Am J Epidemiol* 164:549–555.
- Kuzdak K, Komorowski J. 1995. Nocturnal rhythm of melatonin secretion in strumectomized patients with normal thyrotropin blood levels and recurrent non-toxic benign thyroid nodules. *Neuroendocrinol. Lett* 17:237–243.
- Kvetnaia TV, Kvetnoy IM, Bartsch H, Bartsch C, Mecke D. 2001. Melatonin in cancer with extra-reproductive location. In: Bartsch C, Bartsch H, Blask DE, Cardinali DP, Hrushesky WJM, Mecke D. (eds.), *The Pineal Gland and Cancer: Neuroimmunoendocrine Mechanisms in Malignancy*. Berlin: Springer-Verlag, pp. 177–196.
- Kvetnoy IM. 1999. Extra-pineal melatonin: location and role within diffuse neuroendocrine system. *Histochem J* 31:1–12.
- Kvetnoy IM, Levin IM. 1987. Diurnal excretion of melatonin in cancer of the stomach and large intestine. *Vopr Oncol* 33:29–32.
- Lapin V. 1976. Pineal gland and malignancy. *Österreich Zeitschr. Onkologie* 3:51–59.
- Lapin V, Ebels I. 1976. Effects of some low molecular weight sheep pineal fractions and melatonin on different tumors in rats and mice. *Oncology* 33:110–113.
- Lapin V, Frowein A. 1981. Effects of growing tumors on pineal melatonin levels in male rats. *J. Neural Transm.* 50:123–136.
- LeClerq G, Heuson JC. 1979. Quantitative aspects of estrogen receptors in relation to therapeutic response. In: Thompson EB, Lippman ME. (eds.), *Steroid Receptors and the Management of Cancer I*. Boca Raton: CRC Press, pp. 41–50.
- Lee C, Lapin V, Oyasu R, Battifora H. 1981. Effect of ovariectomy on serially transplanted rat mammary tumours induced by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. *Eur J Cancer Clin Oncol* 17:801–808.
- Leone AM, Skene D. 1994. Melatonin concentrations in pineal organ culture are suppressed by sera from tumor-bearing mice. *J Pineal Res* 17:17–19.
- Lerner AB, Case JD, Takahashi Y. 1958. Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. *J Amer Chem Soc* 80:2587.
- Levi F. 2006. Chronotherapeutics: the relevance of timing in cancer therapy. *Cancer Causes Control* 17:611–621.
- Levine L, Riceberg LJ. 1975. Radioimmunoassay for melatonin. *Res Comm Chem Path Pharm* 10:693–702.
- Li JJ, Nandi S, Li SA. 1992. *Hormonal Carcinogenesis*. New York: Springer-Verlag.
- Lim MK. 2002. Cosmic rays: are air crew at risk? *Occup Environ Med* 59:428–432.
- Lincoln G. 1999. Melatonin modulation of prolactin and gonadotrophin secretion. Systems ancient and modern. *Adv Exp Med Biol* 460:137–153.
- Lissoni P. 2001. Efficacy of melatonin in the immunotherapy of cancer using interleukin-2. In: Bartsch C, Bartsch H, Blask DE, Cardinali DP, Hrushesky WJM, Mecke D. (eds.), *The Pineal Gland and Cancer: Neuroimmunoendocrine Mechanisms in Malignancy*. Berlin: Springer-Verlag, pp. 465–475.
- Lissoni P, Ardizzoia A, Barni S, Paolorossi F, Tancini G, Merzanti S, Esposti G, Zubelewicz B, Braczowski R. 1995a. A randomized study of tamoxifen alone versus tamoxifen plus melatonin in estrogen receptor-negative heavily pretreated metastatic breast cancer patients. *Oncol Rep* 2:871–873.
- Lissoni P, Barni S, Ardizzoia A, Paolorossi F, Crispino S, Tancini G, Tisi E, Archili C, De Toma D, Pipino G, Conti A, Maestroni G. 1992. Randomized study with the pineal hormone melatonin versus supportive care alone in advanced nonsmall cell lung cancer resistant to a first-line chemotherapy containing cisplatin. *Oncology* 49:336–339.
- Lissoni P, Barni S, Ardizzoia A, Tancini G, Conti A, Maestroni G. 1994a. A randomized study with the pineal hormone melatonin versus supportive care alone in patients with brain metastases due to solid neoplasms. *Cancer* 73:699–701.
- Lissoni P, Barni S, Cattaneo G, Tancini G, Esposti G, Esposti D, Fraschini F. 1991. Clinical results with the pineal hormone melatonin in advanced cancer resistant to standard antitumor therapies. *Oncology* 48:448–450.
- Lissoni P, Barni S, Crispino S, Tancini G, Fraschini F. 1989. Endocrine and immune effects of melatonin therapy in metastatic cancer patients. *Eur J Cancer Clin Oncol* 25:789–795.
- Lissoni P, Barni S, Fossati V, Ardizzoia A, Cazzaniga M, Tancini G, Frigerio F. 1995b. A randomized study of neuroimmunotherapy with low-dose subcutaneous interleukin-2 plus melatonin compared to supportive care alone in patients with untreatable metastatic solid tumour. *Support Care Cancer* 3:194–197.
- Lissoni P, Barni S, Tancini G, Ardizzoia A, Ricci G, Aldeghi R, Brivio F, Tisi E, Rovelli F, Rescaldini R, Quadro G, Maestro-

- ni G. 1994b. A randomised study with subcutaneous low-dose interleukin-2 alone vs. interleukin-2 plus the pineal neurohormone melatonin in advanced solid neoplasms other than renal cancer and melanoma. *Br J Cancer* 69:196–199.
- Lissoni P, Barni S, Tancini G, Crispino S, Paolorossi F, Lucini V, Mariani M, Cattaneo G, Esposti D, Esposti G. 1987. Clinical study of melatonin in untreatable advanced cancer patients. *Tumori* 73:475–480.
- Lissoni P, Meregalli S, Nosetto L, Barni S, Tancini G, Fossati V, Maestroni G. 1996. Increased survival time in brain glioblastomas by a radioneuroendocrine strategy with radiotherapy plus melatonin compared to radiotherapy alone. *Oncology* 53:43–46.
- Lissoni P, Viviani S, Bajetta E, Buzzoni R, Barreca A, Mauri R, Resentini M, Morabito F, Esposti D, Esposti G, Frascini F (1986) A clinical study of the pineal gland activity in oncologic patients. *Cancer* 57:837–842.
- Lockley SW, Brainard GC, Czeisler A. 2003. High sensitivity of the human circadian melatonin rhythm to resetting by short wavelength light. *J Endocrinol Metab* 88:4502–4505.
- Löscher W, Fiedler M. 1996. The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs. VI. Seasonal influences on maximal electroshock and pentylenetetrazol seizure thresholds. *Epilepsy Res* 25:3–10.
- Löscher W, Fiedler M. 2000. The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs. VII. Seasonal influences on anticonvulsant drug actions in mouse models of generalized seizures. *Epilepsy Res* 38:231–248.
- Löscher W, Mevissen M, Haussler B. 1997. Seasonal influence on 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary carcinogenesis in Sprague-Dawley rats under controlled conditions. *Pharmacol Toxicol* 81:265–270.
- Lu Q, Qiu HN, Hu N, Wen H, Su Y, Richardson BC. 2006. Epigenetics, disease, and therapeutic interventions. *Ageing Res Rev* 5:229–267.
- Lupowitz Z, Zisapel N. 1999. Hormonal interactions in human prostate tumor LNCaP cells. *J Steroid Biochem. Mol Biol* 68:83–88.
- Ma X, Idle JR, Krausz KW, Gonzalez FJ. 2005. Metabolism of melatonin by human cytochromes p450. *Drug Metab Dispos* 33:489–494.
- Maestroni GJM. 2001. Melatonin and the immune system: therapeutic potential in cancer, viral diseases, and immunodeficiency states. In: Bartsch C, Bartsch H, Blask DE, Cardinali DP, Hrushesky WJM, Mecke D. (eds.), *The Pineal Gland and Cancer: Neuroimmunoendocrine Mechanisms in Malignancy*. Berlin: Springer-Verlag, pp. 384–394.
- Maestroni GJM, Conti A. 1996. Melatonin in human breast cancer tissue: association with nuclear grade and estrogen receptor status. *Lab Invest* 75:557–561.
- Maidonis I. 1996. Versuche zur Reinigung, Isolation und Charakterisierung der pinealen Antitumor-Aktivität aus Schafszirbeldrüsen. Dissertation an der Fakultät für Chemie und Pharmazie der Universität Tübingen.
- Maidonis I, Bartsch H, Bartsch C, Zhang S, Lippert TH, Bayer E. 1993. Purification of sheep pineal antitumor activity using ultra-membrane filtration and various chemical purification techniques in combination with microbioassay. 6th Colloquium of the European Pineal Society, Copenhagen, Denmark, E29.
- McNulty JA, Prechel MM, Audhya TK, Taylor D, Fox L, Dombrowski TA, Simmons WH. 1985. Pineal ultrastructure and indole profiles spanning the summer rise in arginine vasotocin immunoreactivity. *Endocrinology* 117:1035–1042.
- Meites J. 1980. Relation of the neuroendocrine system to the development and growth of experimental mammary tumors. *J Neural Transm* 48:25–42.
- Meyskens FL, Salmon SF. 1981. Modulation of clonogenic melanoma cells by follicle-stimulating hormone, melatonin and nerve growth factor. *Br J Cancer* 43:111–115.
- Moretti RN, Marelli MM, Maggi R. 2000. Antiproliferative action of melatonin on human prostate cancer LNCaP cells. *Oncol Rep* 7:47–51.
- Mormont MC, Lévi F. 1997. Circadian-system alterations during cancer processes: a review. *Int. J Cancer* 70:241–247.
- Neri B, Fiorelli C, Moroni F, Nicita G, Paolotti M, Ponchiotti R, Raugel A, Santoni G, Trippitelli A, Grechi G. 1994. Modulation of human lymphoblastoid interferon activity by melatonin in metastatic renal cell carcinoma. A phase II study. *Cancer* 73:3015–3019.
- Nosjean O, Nicolas JP, Klupsch F, Delagrangé P, Canet E, Bouitin JA. 2001. Comparative pharmacological studies of melatonin receptors: MT1, MT2 and MT3/QR2. Tissue distribution of MT3/QR2. *Biochem Pharmacol* 61:1369–1379.
- Noteborn HPJM, Bartsch H, Bartsch C, Mans DRA, Weusten JJAM, Flehmig B, Ebels I, Salemink CA. 1988. Partial purification of (a) low molecular weight ovine pineal compound(s) with an inhibiting effect on the growth of human melanoma cells in vitro. *J Neural Transm* 73:135–155.
- Noteborn HPJM, Weusten JJAM, Bartsch H, Bartsch C, Flehmig B, Ebels I, Salemink CA. 1989. Partial purification of a polypeptide extract derived from ovine pineal that suppresses the growth of human melanoma cells in vitro. *J Pineal Res* 6:385–396.
- Olcese J, Reuss S, Semm P. 1988. Geomagnetic field detection in rodents. *Life Sci.* 42: 605–613.
- Panzer A, Viljoen M. 1998. Urinary 6-sulfatoxymelatonin levels in osteosarcoma: a case-control study. *Med Sci Res* 26:43–45.
- Papazisis KT, Kouretas D, Geromichalos GD, Sivridis E, Tsekrelis OK, Dimitriadis KA, Kortsaris AH. 1998. Effects of melatonin on proliferation of cancer cell lines. *J Pineal Res* 25:211–218.
- Petersen OW, Nielsen HL, Gudjonsson T, Villadsen R, Rank F, Niebuhr E, Bissell MJ, Ronnov-Jessen L. 2003. Epithelial to mesenchymal transition in human breast cancer can provide a non-malignant stroma. *Am J Pathol* 162:391–402.
- Pink JJ, Jordan VC. 1996. Models of estrogen receptor regulation by estrogens and antiestrogens in breast cancer cell lines. *Cancer Res* 56:2321–2330.
- Poschl G, Stickel F, Wang XD, Seitz HK. 2004. Alcohol and cancer: genetic and nutritional aspects. *Proc Nutr Soc* 63:65–71.
- Praast G. 1991. Untersuchungen zum Stoffwechsel des Melatonins in der Ratte: konventionelle und chronobiologische Analyse der 24-Stunden Urinexkretion von Melatonin und 6-Hydroxymelatonin-sulfat sowie des Leberstoffwechsels nach Applikation von Induktoren mikrosomaler Enzyme. Diplomarbeit an der Fakultät für Chemie und Pharmazie der Universität Tübingen.
- Praast G, Bartsch C, Bartsch H, Mecke D, Lippert TH. 1995. Hepatic hydroxylation of melatonin in the rat is induced by phenobarbital and 7,12-dimethylbenz[a]anthracene – implications for cancer etiology. *Experientia* 51:349–355.

- Ram PT, Dai J, Yuan L, Dong C, Kiefer TL, Lai L, Hill, SM. 2002. Involvement of the mt1 melatonin receptor in human breast cancer. *Cancer Lett* 179:141–150.
- Ram PT, Kiefer T, Silverman M, Song Y, Brown GM, Hill SM. 1998. Estrogen receptor transactivation in MCF-7 breast cancer cells by melatonin and growth factors. *Mol Cell Endocrinology* 141:53–64.
- Ram PT, Yuan L, Dai J. 2000. Differential responsiveness of MCF-7 human breast cancer cell line stocks to the pineal hormone melatonin. *J Pineal Res* 28:210–218.
- Rammensee HG. 1996. Antigen presentation: recent developments. *Int. Arch. Allergy Immunol* 110:299–307.
- Reiter RJ. 1978. Interaction of photoperiod, pineal and seasonal reproduction as exemplified by findings in the hamster. *Prog Reprod Biol* 4:169–190.
- Reiter RJ. 2001. Reactive oxygen species, DNA damage, and carcinogenesis: intervention with melatonin. In: Bartsch C, Bartsch H, Blask DE, Cardinali DP, Hrushesky WJM, Mecke D. (eds.), *The Pineal Gland and Cancer: Neuroimmunoenocrine Mechanisms in Malignancy*. Berlin: Springer-Verlag, pp. 422–455.
- Relkin R. 1976. The pineal and human disease. In: Relkin R, editor. *Annual Research Reviews: The Pineal*. Lancaster: Eden Press, pp. 76–79.
- Rich T, Innominato PF, Boerner J, Mormont MC, Iacobelli S, Baron B, Jasmin C, Levi F. 2005. Elevated serum cytokines correlated with altered behavior, serum cortisol rhythm, and dampened 24-hour rest-activity patterns in patients with metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 11:1757–1764.
- Rivest RW, Aubert ML, Lang U, Sizonenko PC. 1986. Puberty in the rat: modulation by melatonin and light. *J Neural Transm (Suppl.)* 21:81–108.
- Robinson W, Dreiling L, Gonzalez R, Balmer C. 1995. Treatment of human metastatic malignant melanoma with high dose oral melatonin. In: Fraschini F, Reiter RJ, Stankov B. (eds.), *The Pineal Gland and Its Hormones: Fundamentals and Clinical Perspectives*. New York: Plenum Press, pp. 219–225.
- Rodin AE. 1963. The growth and spread of Walker 256 carcinoma in pinealectomized rats. *Cancer Res* 23:1545–1550.
- Rubin H, Chow M, Yao A. 1996. Cellular aging, destabilization and cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:1825–1830.
- Saito Y, Jones PA. 2006. Epigenetic activation of tumor suppressor microRNAs in human cancer cells. *Cell Cycle* 5:2220–2222.
- Sandyk R, Anastasiadis PG, Anninos PA, Tsagas N. 1992. Is the pineal gland involved in the pathogenesis of endometrial carcinoma. *Int J Neurosci* 62:89–96.
- Sasseville A, Paquet N, Sevigny J, Hebert M. 2006. Blue blocker glasses impede the capacity of bright light to suppress melatonin production. *J Pineal Res* 41:73–78.
- Schernhammer ES, Kroenke CH, Laden F, Hankinson SE. 2006. Night work and risk of breast cancer. *Epidemiology* 17:108–111.
- Schernhammer ES, Laden F, Speizer RF, Willett WC, Hunter DJ, Kawachi I, Colditz GA. 2001. Rotating night shifts and risk of breast cancer in women participating in the nurses' health study. *J Natl Cancer Inst* 93:1563–1568.
- Schernhammer ES, Laden F, Speizer FE, Willett WC, Hunter DJ, Kawachi I, Fuchs CS, Colditz GA. 2003. Night-shift work and risk of colorectal cancer in the nurses' health study. *J Natl Cancer Inst* 95:825–888.
- Schernhammer ES, Rosner B, Willett WC, Laden F, Colditz GA, Hankinson SE. 2004. Epidemiology of urinary melatonin in women and its relation to other hormones and night work. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 13:936–943.
- Schernhammer ES, Schulmeister K. 2004. Melatonin and cancer risk: does light at night compromise physiologic cancer protection by lowering serum melatonin levels? *Br J Cancer* 90:941–943.
- Schmidt U. 1996. Untersuchungen zum Einfluß des Tumorstadiums auf die Melatoninsekretion der Rattenzirbeldrüse. Dissertation an der Fakultät für Chemie und Pharmazie der Universität Tübingen.
- Schmidt U, Bartsch C, Bartsch H, Mecke D. 1997. Pineal melatonin secretion seems to be reversibly inhibited by a tumor-derived melatonin inhibiting factor. *Cancer Biotherapy* 12:429.
- Schütze N, Kraft V, Deerberg F, Winking H, Meitinger D, Ebert K, Knuppen R, Vollmer G. 1992. Functions of estrogens and anti-estrogens in the rat endometrial adenocarcinoma cell lines RUCA-I and RUCA-II. *Int J Cancer* 52:941–949.
- Scott R Jr., Mutchnik DL, Laskowski TZ, Schmalforst WR. 1969. Carcinoma of the prostate in elderly men: incidence, growth characteristics and clinical significance. *J Urol* 101:602–607.
- Shah PN, Mhatre MC, Kothari LS. 1984. Effect of melatonin on mammary carcinogenesis in intact and pinealectomized rats in varying photoperiods. *Cancer Res* 44:3403–3407.
- Sigurdson AJ, Ron E. 2004. Cosmic radiation exposure and cancer risk among flight crew. *Cancer Invest* 22:743–761.
- Sizonenko PC, Lang U, Rivest RW, Aubert ML. (1985) The pineal and pubertal development. *Ciba Found Symp* 117:208–230.
- Skene DJ, Bojkowski CJ, Currie JE, Wright J, Boulter PS, Arendt J. 1996. 6-sulphatoxymelatonin production in breast cancer patients. *J Pineal Res* 8:269–276.
- Skene DJ, Papagiannidou E, Hashemi E, Snelling J, Lewis DF, Fernandez M, Ionanides C. 2001. Contribution of CYP1A2 in the hepatic metabolism of melatonin: studies with isolated microsomal preparations and liver slices. *J Pineal Res* 31:333–342.
- Spiro SG, Silvestri GA. 2005. One hundred years of lung cancer. *Am J Respir Crit Care Med* 172:523–529.
- Starr KW. 1970. Growth and new growth: environmental carcinogens in the process of ontogeny. *Prog Clin Cancer* 4:1–29.
- Stevens RG. 2002. Lighting during the day and night: Possible impact on risk of breast cancer. *Neuroendocrinol Lett* 23 (Suppl. 2):57–60.
- Strohm RC. 1995. Linear genetics, non-linear epigenetics: complementary approaches to understanding complex diseases. *Integr Physiol Behav Sci* 30:273–282.
- Subramanian A, Kothari L. 1991a. Suppressive effect by melatonin on different phases of 9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene (DMBA)-induced rat mammary gland carcinogenesis. *Anti-cancer Drugs* 2:297–303.
- Subramanian A, Kothari L. 1991b. Melatonin, a suppressor of spontaneous murine mammary tumors. *J Pineal Res* 10:136–140.
- Tamarkin L, Cohen M, Roselle D, Reichert C, Lippman M, Chabner B. 1981. Melatonin inhibition and pinealectomy enhancement of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary tumors in the rat. *Cancer Res* 41:4432–4436.
- Tamarkin L, Danforth D, Lichter A, Demoss E, Cohen M, Chabner B, Lippman M. 1982. Decreased nocturnal plasma melatonin peak in patients with estrogen receptor positive breast cancer. *Science* 216:1003–1005.

- Tanavde VS, Maitra A. 2003. In vitro modulation of steroidogenesis and gene expression by melatonin: a study with porcine antral follicles. *Endocr Res* 29:399–410.
- Verkasalo PK, Pukkala E, Stevens RG, Ojamo M, Rudanko SL. 1999. Inverse association between breast cancer incidence and degree of visual impairment in Finland. *Br J Cancer* 80: 1459–1460.
- Vijayalaxmi, Reiter RJ, Tan DX, Herman TS, Thomas CR. 2004. Melatonin as a radioprotective agent: a review. *Int J Radiation Oncology Biol Phys* 59:639–653.
- Viviani S, Bidoli P, Spinazze S, Rovelli F, Lissoni P. 1992. Normalization of the light/dark rhythm of melatonin after prolonged subcutaneous administration of interleukin-2 in advanced small cell lung cancer patients. *J Pineal Res* 12:114–117.
- Vollrath L. 1981. The Pineal Organ, *Handb d mikroskop Anat* VI-7. Berlin: Springer-Verlag.
- Vollrath L. 2001. Biology of the pineal gland and melatonin in humans. In: Bartsch C, Bartsch H, Blask DE, Cardinali DP, Hrushesky WJM, Mecke D, eds. *The Pineal Gland and Cancer: Neuroimmunoendocrine Mechanisms in Malignancy*. Berlin: Springer-Verlag, pp. 5–49.
- Welker HA, Semm P, Willig RP, Commentz JC, Wiltshko W, Vollrath L. 1983. Effects of an artificial magnetic field on serotonin N-acetyltransferase activity and melatonin content of the rat pineal gland. *Exp Brain Res* 50:426–432.
- Wiltshko R, Wiltshko W. 2006. Magnetoreception. *Bioessays* 28:157–168.
- Wrba H, Halberg F, Dutter A. 1983. Melatonin circadian-stage dependently delays breast tumor development in mice injected daily for several months. *Chronobiologia* 13:123–128.