

Östrojenle İndüklenen Meme Kanseri, Tedavi Yaklaşımları ve Melatoninin Tedavideki Rolü

Estrogen-Induced Breast Cancer, Therapeutical Approaches and the Role of Melatonin in Treatment

Elif INCE-ERGUC^{1,2},

*Hande GURER-ORHAN²

¹Katip Çelebi University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Toxicology, 35620, İzmir, Turkey

²Ege University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Toxicology, 35100, İzmir, Turkey

Corresponding author:

Prof. Hande Gurer-Orhan
Tel: +90 232 311 1364
email: hande.gurer.orhan@ege.edu.tr

SUMMARY

Breast cancer is the second cause of death among female cancers and its incidence is increasing rapidly. Endogen estrogens and xenoestrogens are involved in the initiation and progression of breast cancer via two complementary pathways; they can increase cell proliferation via binding to estrogen receptor and their reactive quinone metabolites can induce oxidative DNA damage. Adjuvant treatment of hormone-dependent breast cancer aims to eliminate the effect of estrogens either by using selective estrogen receptor modulators (SERM) or selective estrogen enzyme modulators (SEEM). Adverse effects of current drugs and development of resistance to therapy promotes investigation of new therapeutic agents against breast cancer. Melatonin, an indolic hormone, is known to be beneficial in breast cancer via estrogen receptor mediated effects and inhibition of aromatase. Furthermore melatonin is reported to increase effectiveness and reduce adverse effects of the conventional breast cancer therapy. However short half-life and low bioavailability limits its therapeutic use. Therefore synthesizing new and more effective melatonin analogues with longer half lives is suggested to improve success of the therapy.

Keywords: Breast cancer, melatonin, SERM, SEEM, estrogen

ÖZET

Meme kanseri, dünyada görülme sıklığı hızla artan ve kadınlarda kanserden ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer alan bir kanser türüdür. Endojen östrojenlerin ve bazı eksojen östrojenik bileşiklerin reseptör aracılığıyla hücre proliferasyonunu artırarak, ya da metabolizmaları sonucu oluşan reaktif kinon metabolitlerinin DNA'ya bağlanması ile meme kanserinin oluşum ve gelişimine katkıda bulunduğu bildirilmektedir. Hormon bağımlı meme kanserinin adjuvan tedavisinde östrojenin etkisini ortadan kaldırmayı amaçlayan mekanizmalar aracılığı ile iki temel terapötik ajan grubu kullanılmaktadır; östrojenin reseptörü aracılığıyla gerçekleşen etkilerini hedef alan selektif östrojen reseptör modülatörleri (SERM) ve östrojen sentezinde yer alan enzimatik yolları hedef alan selektif östrojen enzim modülatörleri (SEEM). Bu ilaçların çeşitli yan etkilerinin olması ve tedavi sırasında bazı ilaçlara direnç gelişmesi gibi faktörler meme kanseri tedavisinde yeni ajanların geliştirilmesi konusundaki çalışmaların sürmesini desteklemekte-

dir. Endojen bir hormon olan melatoninin hormon-ilişkili meme kanserinde östrojen reseptörü aracılıklı etkileri değiştirdiği ve dokularda lokal östrojen sentezini inhibe ettiği bilinmektedir. Meme kanserinin önlenmesi ve tedavisinde destekleyici ajan olarak kullanımının diğer ilaçların etkinliğini artırdığı ve yan etkilerini azalttığı da gösterilmiştir. Bunun yanında düşük yarılanma ömrüne sahip olması ve oral biyoyararlanımının düşük olması melatoninin ilaç olarak kullanımını kısıtlamaktadır. Bu nedenlerle yarılanma ömrü daha uzun ve daha etkin melatonin analoglarının sentezlenmesinin tedavi başarısını artırabileceği tartışılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, östrojen, SERM, SEEM, melatonin.

1. Giriş

Meme kanseri dünyada en sık görülen ikinci kanser türüdür (1). Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC)'nın yürütmüş olduğu GLOBOCAN 2012 proje verilerine göre kanser nedeniyle ölümlerde meme kanserinin 2. sırada yer aldığı bildirilmiştir. 2012 yılında yaklaşık 1,67 milyon kadına ilk kez meme kanseri teşhisi konulduğu tahmin edilmektedir (tüm kanser vakalarının %25'i) (1).

Meme kanseri görülme sıklığının gelişmiş ülkelerde gelişmekte olan ülkelere kıyasla çok daha yüksek olduğu görülmektedir. Buna karşın meme kanserinden ölüm oranlarının gelişmiş ülkelerde daha düşük olması tarama ve tedavideki gelişmelerin önemine dikkat çekmektedir (1).

Meme kanseri olgularının büyük bir kısmı hormon-bağımlıdır ve yüksek konsantrasyonlarda östrojene uzun süre maruziyet ile meme kanseri insidansı arasında pozitif bir ilişki olduğu gösterilmiştir (2-6). Bununla birlikte hormonlardan bağımsız olarak ortaya çıkan ve gelişen meme kanseri tipleri de mevcuttur. Oluşum ve gelişim mekanizmaları açısından farklılıklar gösteren meme kanserlerinde tedavi yaklaşımlarının da farklı olacağı gerçeğinden hareketle öncelikle meme kanseri tiplerini ve aralarındaki temel farkları görmek yararlı olacaktır.

2. Meme Kanserinin Sınıflandırılması

Meme kanseri tek bir hastalık olarak değil, farklı klinik ve patolojik özelliklere sahip alt grupları olan bir hastalık grubu olarak tanımlanmaktadır. Bu alt gruplama, hastanın veya tümörün fenotipik ve genotipik özelliklerindeki (tümör evresi, derecesi, genetik geçmişi ve klinikteki davranışı) farklılıklar esas alınarak yapılmaktadır. Bu alt tiplerin tedaviye yanıtları da farklılık gösterdiğinden meme kanserinde alt tipin tanımlanması doğru tedavinin uygulanması ve tedavi etkinliğinin artırılması açısından büyük önem taşımaktadır (7-9).

Perou ve arkadaşları gen ekspresyon profiline dayanarak meme kanserinin 4 alt tipini tanımlamışlardır (8). Fakat bu yöntem klinik ve araştırmalar için maliyetli ve karışık olması nedeniyle çok kullanılabilir olmadığından immünohistokimyasal göstergelerin kullanılması tercih edilmektedir (10,11).

Bu yaklaşıma göre tümörler östrojen reseptör (ER), progesteron reseptör (PR) ve epidermal büyüme faktör reseptörü (HER2) ekspresyonlarına göre 4 alt tipe ayrılmaktadır; luminal A, luminal B, üçlü-negatif bazal-benzeri ve HER2 (9).

Luminal A; meme kanserlerinin en sık görülen (% 40) alt tipidir. Bu tip tümörler ER ve/veya PR eksprese ederken HER2 eksprese etmezler. Diğer tümör tiplerine göre büyüme hızları yavaştır ve daha az agresiftirler. Hormon reseptör ekspresyonu bulunması tedavide hedef olabileceğinden tüm alt tipler arasında en iyi prognoza sahip tiptir.

Luminal B; meme kanserlerinin % 10-20' lik kısmı bu tiptedir. Bu tümörler ER+ ve/veya PR+ olmakla birlikte HER2 eksprese etmeleri nedeniyle luminal A tipinden ayrılırlar. Proliferasyon hızları yüksektir ve luminal A tümörlere kıyasla prognozu kötüdür.

Üçlü negatif bazal-benzeri; meme kanserlerinin yaklaşık % 10-20' si bu tiptedir. ER-, PR-, HER2- olan bu tümörler agresif ve invaziv özelliktedir. Hormonal tedaviye yanıt vermedikleri ve hedeflenen bir tedavi yaklaşımı bulunmadığı için kötü bir prognoza sahiptirler.

HER2 tipi; tüm meme kanserlerinin % 10'u bu tiptedir. HER2 ekspresyonu yüksek olan bu tipte hormon reseptörleri eksprese edilmemektedir. Bu tip kanserler bazal benzeri kanserler gibi agresif büyüme ve yayılma özelliği gösterirler. Kısa vadede prognozu luminal kanserlere göre daha kötü fakat üçlü negatif kanserlere göre daha iyidir (7,10-12).

3. Endojen Östrojenler ile İndüklenen Meme Kanseri

Yüksek konsantrasyonlarda östrojene uzun süre maruziyet ile meme kanseri insidansı arasında pozitif ilişki olduğunu belirtmiştik (2–5). Endojen östrojenin karsinogenezi indüklemesinin temelinde iki farklı mekanizmanın rolü olduğu bildirilmektedir (6). Bunlardan ilki östrojen reseptörü aracılığı ile hücre proliferasyonunun artırılması, diğeri ise östrojenin oksidatif metabolizması sonucu oluşan reaktif kinon metabolitlerinin DNA hasarı oluşturmasıdır.

Östrojenler 18 karbon taşıyan steroid yapıda bir grup hormondur. Bunlardan 17- β -östradiol (E₂), östron (E₁) ve östriol (E₃) insan vücudunda bulunan başlıca östrojenlerdir. Östrojenler menopoz öncesi dönemde başlıca overlerde sentezlenir. Menopoz sonrası dönemde ve erkeklerde ise östrojen sentezi gonad dışı dokularda lokal olarak testosteronun aromatisasyonu sonucu gerçekleşmektedir (13).

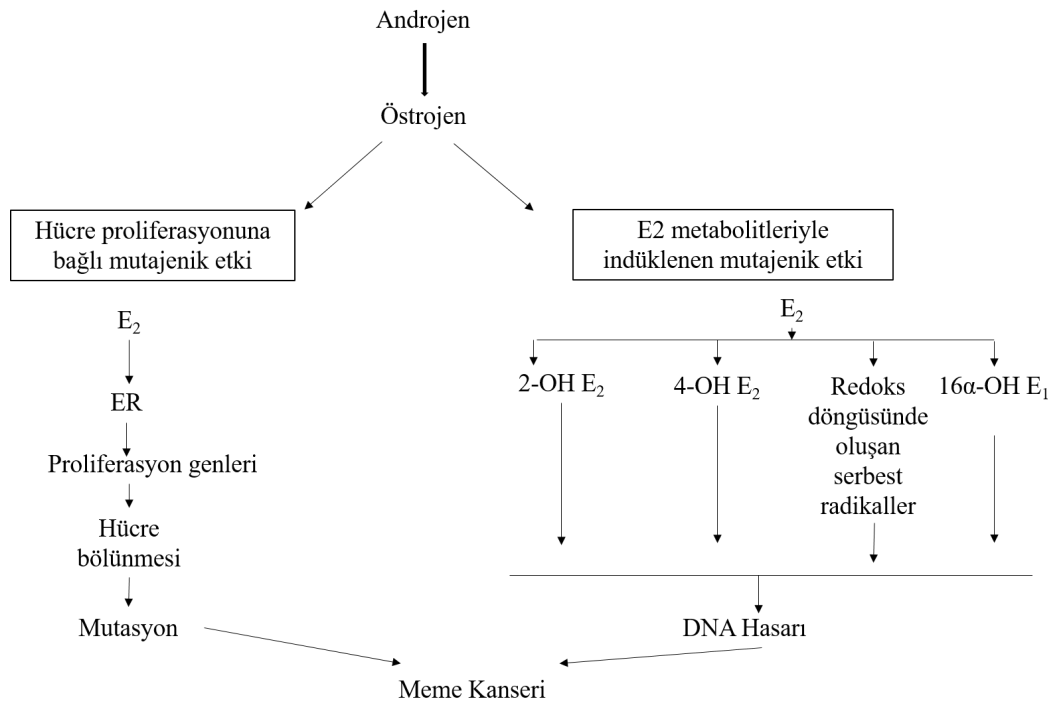
Meme kanseri hormon-bağımlı kanserlere klasik bir örnektir. Yeni tanı konan meme kanseri vakalarının yaklaşık % 95'i başlangıçta hormon bağımlıdır. *In vitro* ve *in vivo* çalışmalar yaşam boyu artmış östro-

jen maruziyetinin meme ve endometriyum gibi hormon-ilişkili kanserlerin gelişiminde başlıca risk faktörü olduğunu göstermiştir (14–17). Erken menarj, geç menopoz, ilk gebeliğin geç yaşta olması ve hiç doğum yapmamış olmak meme kanseri riskini artırırken; ilk gebelik yaşının erken olması, uzun emzirme süresi, yüksek doğum sayısı meme kanseri riskini azaltmaktadır (18,19). Endojen kaynakların yanında, kontrasepsiyon amaçlı kullanılan 17 α -etinilöstradiol, hormon replasman tedavisinde kullanılan mestranol, premarin gibi sentetik östrojenler de meme kanseri riskini arttırmaktadır (20,21).

Endojen östrojenin indüklediği karsinogeneizde iki farklı mekanizmanın rolü olduğu gösterilmiştir. Bunlardan ilki östrojen reseptörü aracılı, diğeri ise östrojen reseptöründen bağımsız etkilerdir (22,23) (Şekil 1).

3.1 Östrojen Reseptörü Aracılı Etkiler

Östrojen ER'ye bağlandığında reseptörün konformasyonel değişikliğe uğramasıyla homodimerizasyon gerçekleşmektedir (24). Dimerizasyona uğrayan ER, DNA üzerinde hedef genlerin promotör bölgelerinde bulunan Östrojen Yanıt Elementine (ERE; est-



Şekil 1. Östrojenin indüklediği karsinogeneizde östrojen reseptörü aracılı ve östrojen reseptöründen bağımsız yollar (6)

rogen response element) bağlanır (25). Homodimerize ER, koregülatör olarak adlandırılan proteinlerle etkileşime girerek bir transkripsiyonel kompleks oluşturduğunda gen regülasyonu gerçekleşmektedir. Bu koregülatörler ER transkripsiyon kompleksini aktive (koaktivatör) ya da inaktive (inaktivatör) ederek hedef gendeki ER ekspresyonunu değiştirmektedir (26).

Hücre proliferasyonundaki artışın kanser oluşumundaki rolü Preston-Martin ve ark. tarafından açıklanmıştır. Hücre proliferasyonu arttığında DNA replikasyonu sırasında yanlış eşleşmelerin olma olasılığı artmaktadır. Hücre bölünme hızı kontrolsüz bir şekilde arttığında oluşan nokta mutasyonların onarımı için yeterli süre olmayacağından DNA'daki katım ürünleri ve/veya kırıklar bölünme sonrasında sabit mutasyonlara dönüşmektedir. Oluşan bu mutasyonların kimyasal karsinogenезin başlangıç basamağında (initiation) "başlatıcı" rol üstlenebileceği düşünülmektedir. Reseptöre bağlanmanın aynı zamanda proto-onkogenleri ve onkogenleri de aktive ederek kanser oluşumuna katkı sağladığı bildirilmiştir (22).

3.2 Östrojen Reseptöründen Bağımsız Etkiler

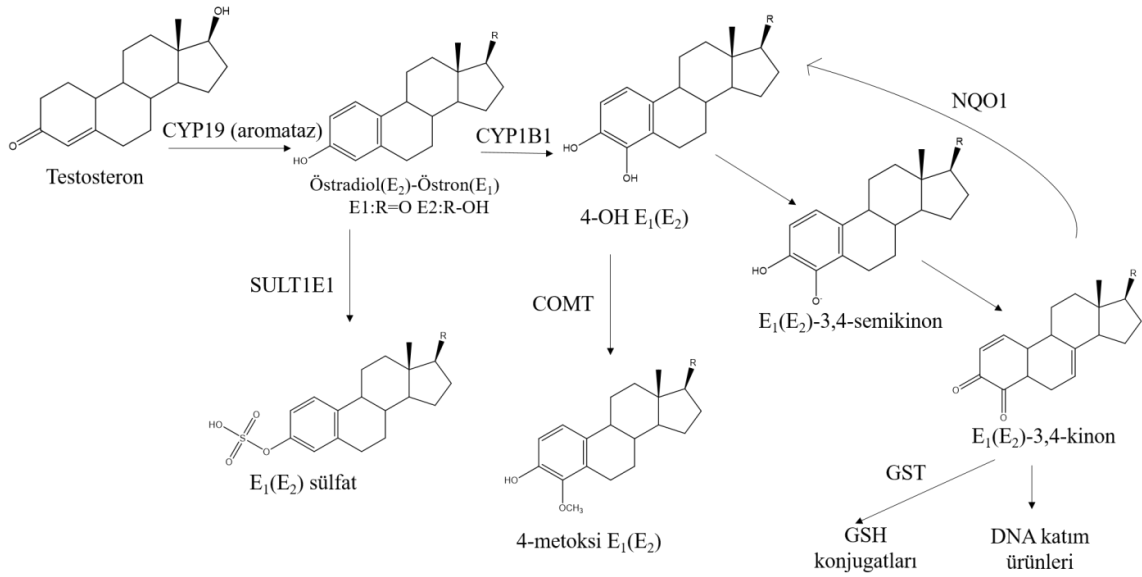
Östrojenin ER'den bağımsız olarak, oksidatif metabolizması sonucu oluşan genotoksik metabolitleri aracılığıyla meme kanserini tetikleyebildiği *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarla kanıtlanmıştır (6). Östrojenler oksidatif metabolizma sonucu 2-OH ve 4-OH metabolitlerine dönüşmektedir. Bu katekol metabolitlerinin oksidatif metabolizması sonucu 2,3- ve 3,4- kinon metabolitleri oluşmaktadır (27). Oluşan reaktif kinon türevleri DNA daki pürin bazlarına kovalanarak bağlanarak DNA katım ürünleri (4-OH-östradiol-1-N7-guanin and 4-OH-östradiol-1-N3-adenin) oluşumuna sebep olmakta, bu katım ürünlerinin DNA'dan ayrılmasıyla nokta mutasyonlarına duyarlı apürinik bölgeler oluşmaktadır. DNA'daki apürinik bölgelerin hatalı baz eksizyon onarımı sonucu kanser oluşumuna yol açan mutasyonlar oluşabilmektedir. Oluşumu CYP1B1 tarafından katalizlenen 4-OH katekol metabolitleri DNA'da stabil olmayan katım ürünlerinin oluşumuna neden olmaktadır (28). Östrojen kinon metabolitlerinin meme kanseri olgularında kontrol grubuna göre daha yüksek oranda bulunması bu metabolitlerin mutasyon ve kanser oluşum sürecinde rolü olabileceğini göstermektedir (29).

Östrojenlerin metabolizması sırasında oluşan semikinon metabolitleri moleküler oksijen varlığında

enzimatik olmayan otooksidayona uğrayarak kinon yapısına dönüşebilmektedir. Oluşan kinonun semikinona geri dönüşümü ise sitokrom P450 redüktaz aracılıklı redoks reaksiyonu ile gerçekleşmektedir. Bu süreçte oksijen molekülü süperoksit anyon radikaline ($O_2^{\cdot-}$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) indirgenmekte, H_2O_2 ise Fe^{+2} iyonları varlığında reaktif hidroksil radikaline (HO^{\cdot}) dönüşmektedir. Hidroksil radikali lipidlerin yağ asidi zincirlerinden bir hidrojen atomu kopartmaya yetecek reaktiviteye sahiptir ve özellikle membranlarda lipid peroksidasyonu denen bozunma sürecinin başlamasına yol açmaktadır (28,30).

Sağlıklı kişilerde östrojen metabolizması sırasında oluşan katekol metabolitleri karaciğerde glukronit ve sülfat konjugasyonu ile inaktive edilirken, ekstrahepatik dokularda katekol O-metil transferaz (COMT) enzimi aracılığı ile metilasyon yolu ile detoksifiye edilmektedir (6,31). Kinon metabolitleri ise Faz II enzimleri arasında yer alan NAD(P)H kinon oksidoredüktaz 1 (NQO1) enzimi aracılığı ile katekol metabolitlerine indirgenmeleri sonrasında COMT enzimi ile detoksifiye edilmektedir. Kinon metabolitleri aynı zamanda glutatyon-S-transferaz (GST) enzimi aracılığıyla, GSH konjugatları halinde uzaklaştırılabilmektedir (32,33). Şekil 2'de şematize edilen bu metabolik yolda yer alan Faz I enzimleri endojen östrojenlerin biyoaktivasyonuna neden oldukları için kanser oluşumunda önemli birer faktör, Faz II enzimleri ise reaktif östrojen metabolitlerinin detoksifikasyonunda rol oynadıkları için kanserden korunmada önemli birer basamak oluşturmaktadırlar.

Östrojen metabolizması sırasında aktivasyondan sorumlu CYP enzimleri ile detoksifikasyondan sorumlu COMT, NQO1 ve GST enzimleri arasında bir denge söz konusudur. Bu dengenin diyet, çevresel maruziyetler, yaşam şekli, yaşlanma ve genetik faktörler nedeniyle kinon metabolitleri ve nihai olarak depürine edici DNA katım ürünleri oluşumu yönünde bozulması DNA hasarıyla sonuçlanmaktadır. Bu durumun da karsinogenезin başlama evresini tetikleyebileceği ifade edilmektedir (31). Meme kanserli kadınlarda yapılan bir çalışmada aktivasyondan sorumlu CYP enzimlerinin yüksek miktarda, deaktivasyondan sorumlu enzimlerin ise düşük miktarda eksprese edildiği, kanserli olmayan kadınlarda ise durumun bunun tam aksi yönünde olduğu gözlenmiştir (34). Biyoaktivasyondan sorumlu enzimlerin (CYP19A1 ve CYP1B1) inhibisyonu ve detoksifikasyondan sorumlu enzimlerin (COMT, NQO1 ve GST) aktivasyonu/indüksiyonuna neden olan resve-



Şekil 2. Östrojenin endojen metabolizması ve yolda yer alan biyoaktivasyon ve detoksifikasyondan sorumlu enzimler (33)

ratrol, N-asetilsistein ve sulforafan gibi maddelerin varlığında östrojen-DNA katım ürünleri oluşumunun azaldığı bildirilmiştir. Bu bulgular östrojen metabolizmasındaki dengenin meme kanserindeki önemi ve rolünü vurgulamaktadır (35,36).

4. Meme Kanseri Tedavisinde Östrojeni Hedef Alan Terapötik Yaklaşımlar

Östrojenin hormon-bağımlı meme kanserinin ilerleme ve gelişimindeki rolü göz önüne alındığında tedavi ve tekrarın önlenmesinde ana yaklaşım östrojenin etkisini ortadan kaldırmaktır. Bu anlamda tarihte uygulanan ilk antiöstrojenik yaklaşım ‘overektomi’ ile overlerin alınması olmuştur (37). Memenin cerrahi olarak alınması, radyoterapi, kemoterapi ve hormon terapisi de günümüzde kullanılan tedavi yaklaşımlarıdır.

Östrojen sinyal yolağı ile etkileşen ilaçlar iki grupta sınıflandırılmaktadır:

- Endojen östrojenlerin etkisini reseptör aracılığıyla etkileyen selektif östrojen reseptör modulatorleri (SERM) (tamoksifen ve türevleri gibi)
- Östrojenlerin sentezinde yer alan enzimlerin aktivitesini etkileyen selektif östrojen enzim modulatorleri (SEEM) (formestan, letrozol gibi) (38,39).

4.1 Selektif Östrojen Reseptör Modulatorleri (SERM)

Selektif östrojen reseptör modulatorleri östrojen reseptörüne bağlanan ve reseptörün eksprese edildiği dokuya bağlı olarak farklı biyolojik değişikliklere neden olan sentetik non-steroidal ajanlardır (40). SERM’ler bazı dokularda östradiolün etkisini taklit ederek agonist etkili ya da hormonun etkisine zıt yönde antagonist etkili olabilmektedir (41).

Östrojenler veya SERM’ler ER’ye bağlandıktan sonra östrojen sentezinden sorumlu genleri aktive eden bir dizi olay gerçekleşmektedir (Bkz 3.1). Östrojen reseptörüne bağlanarak onun fonksiyonunu düzenleyen ve transkripsiyonu pozitif ya da negatif yönde etkileyen yirmiden fazla koregülatör protein tanımlanmıştır (42,43). Ligandın reseptöre bağlanmasıyla oluşan reseptör kompleksinin farklı düzenleyici proteinlerle etkileşmesi farklı sonuçlara neden olmaktadır. Meme kanserinin tedavisinde en sık kullanılan SERM olan tamoksifenin meme dokusunda ER antagonisti iken uterus ve kemikte agonist ya da parsiyel agonist etkili olması bu duruma örnektir (44). Tamoksifen meme dokusunda promotor gen üzerinde transkripsiyonu inaktive edici proteinlerle etkileşerek antagonist etkili olmakta, endometriumda ise aktivatör proteinlerle etkileşerek östrojen reseptör agonisti olarak hareket etmektedir (45).

SERM'ler selektif östrojen agonisti özelliklerinden dolayı osteoporoz gibi östrojen eksikliğinden kaynaklanan hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde kullanılmaktadır. Bunun yanında selektif östrojen antagonist özellikleriyle de gelişiminde östrojenin rol oynadığı hormon-bağımlı meme kanseri tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak bazı dokularda selektif olarak zayıf agonist etkili olmaları ve sıcak basmasına neden olmaları SERM'lerin meme kanseri tedavisinde kullanımını kısıtlayan başlıca faktörlerdir (46).

Tamoksifen, meme kanserinin bütün evrelerinde endokrin tedavi seçeneği olarak kullanılan en önemli ajandır. Menopoz sonrası kadınlarda tamoksifen kullanımı, bazı dokulardaki reseptör agonisti etkisinden dolayı östrojen replasman tedavisine benzer şekilde yan etkilere neden olmaktadır. Bunlar venöz tromboz, pulmoner emboli, felç ve endometriyal kanserdir (47). Tamoksifen kullanan meme kanseri hastalarında endometriyal kanser görülme sıklığının iki kat arttığı belirlenmiştir (48).

Raloksifen (orijinal adı LY156,750), östrojen reseptörüne yüksek afinite gösteren non-steroidal antiöstrojenik bir ajandır (49) ve menopoz sonrası kadınlarda osteoporozun önlenmesinde kullanılmak üzere FDA tarafından onaylanmıştır. İlk olarak meme kanserinin tedavisinde kullanılması hedeflenmiş fakat daha sonra sıçanlarda kemik yoğunluğunun azalmasına neden olmayışı ve tamoksifenle stimüle edilen endometriyal kanser oluşumunu inhibe etmesi yönündeki bulgular raloksifenin osteoporozun önlenmesine yönelik ilaç geliştirme çalışmalarında yer bulmasına zemin hazırlamıştır (50–52).

Tamoksifenin ER üzerindeki parsiyel agonist etkileri nedeniyle güvenlik aralığı daha geniş, saf antagonist bileşiklerin geliştirilmesi amaçlanmıştır. **Fulvestran** bu anlamda klinik çalışmalarda etkinliği tanımlanan ilk 'saf antiöstrojen' ilaçtır. Fulvestran ER'ye bağlandığında reseptörün dimerizasyonunu bozmakta, aktivasyon faktörlerini inaktive etmektedir. Ayrıca ER degradasyonunu artırmakta ve nükleer ER lokalizasyonunu bozmaktadır. Bunun sonucunda transkripsiyonu ve hücre proliferasyonunu inhibe etmektedir (53). Hücre içi ER düzeylerinin ve ER yarı ömrünün azaldığı da gösterilmiştir (54). Bu mekanizması nedeniyle "östrojen reseptör baskılayıcı (downregulator)" olarak adlandırılmaktadır. Tamoksifenin aksine fulvestran uterusu proliferasyona neden olmamaktadır (55). Aynı zamanda kan-beyin bariyerini geçemediğinden östrojenin beyindeki etkilerini engellemekte ve sıcak basmasına neden

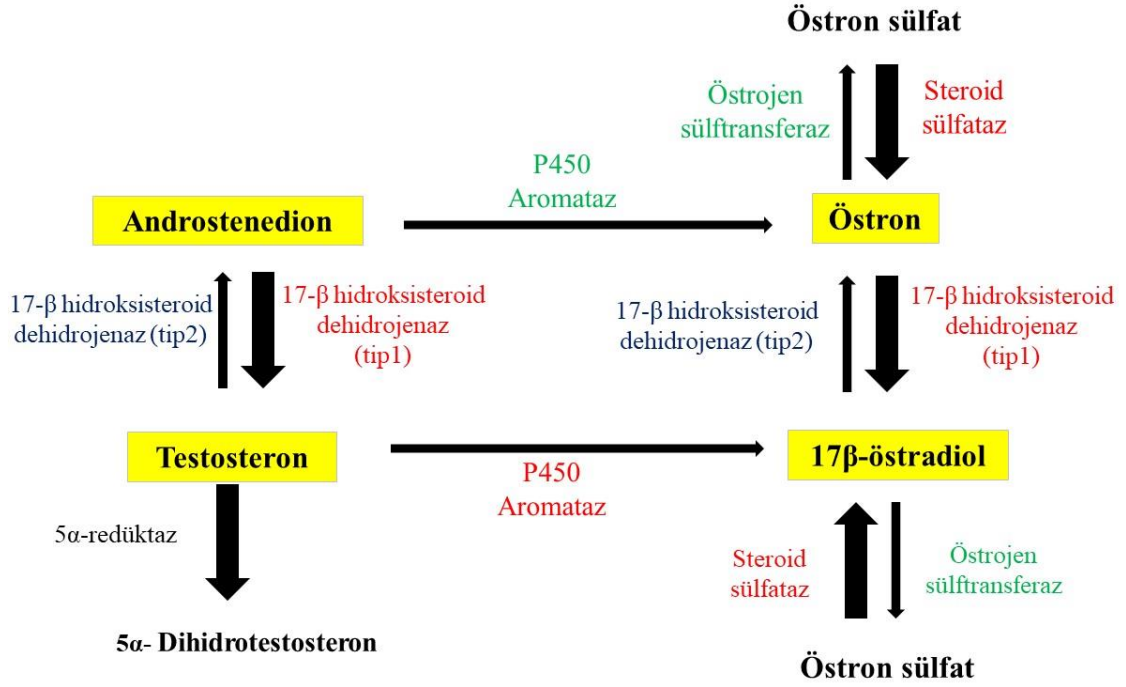
olmamaktadır (56). Tamoksifene dirençli ileri evre meme kanserli kadınlarda yapılan klinik çalışmalar ikinci basamak fulvestran tedavisinin en az ikinci basamak anastrozol tedavisi kadar etkili olduğunu göstermektedir (57).

4.2 Selektif Östrojen Enzim Modülatörleri (SEEM)

Menopoz sonrası dönemde periferik dokularda (yağ, kas dokusu ya da tümör dokusunda) östrojen sentezi androjenlerin enzimatik biyotransformasyonu sonucu gerçekleşmektedir (58). Steroidlerin meme dokusundaki biyotransformasyon yolları Şekil 3'te görülmektedir (59). Aromataz (CYP19A) enzimi androjenlerin (testosteron ve androstendion) östrojenlere dönüşümünü katalizlemektedir. Östrojenler, östrojen sülfotransferaz enzimi ile sülfat konjugatına, oluşan konjugat ise östrojen sülfataz enzimi aracılığı ile konjuge olmamış aktif östrojen formuna dönüşür (60). 17-β-hidroksisteroid dehidrojenaz (tip I ve tip II) enzimleri ise düşük aktiviteye sahip olan androstendion ve östronun sırasıyla aktivitesi daha yüksek olan testosteron ve 17-β-östradiole dönüşümünü katalizlemektedir (61). Normal meme dokunun aksine meme kanserli dokularda eğilimin aktif türevlerin oluşumu yönünde olduğu bildirilmektedir (59).

Meme kanserli dokularda aromataz aktivitesinin sağlıklı meme dokusuna göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (62,63). Aromataz enzimi aracılığı ile lokal olarak sentezlenen östrojen, hormon-bağımlı kanser hücre proliferasyonunda artışa neden olacağından, bu sentezde yer alan enzimleri inhibe eden ilaçların geliştirilmesi tedavi yaklaşımında önem kazanmıştır (38). Ayrıca SERM'ler endometriyum gibi dokularda ER agonist etkileri sonucu ciddi advers etkilere neden oldukları için tedavide östrojen sentezini önlemenin daha güvenli bir yaklaşım olacağı düşünülmüştür (64). Meme kanserinin önlenmesi ve tedavisinde anastrozol, letrozol, eksemestan gibi klinikte başarılı olan aromataz inhibitörleri bulunmaktadır (65,66). Fakat bu ilaçlarla tedavide baş ağrısı, uykusuzluk, bulantı, artralji gibi çok sayıda yan etki görülmekte (66–68) ve daha önemlisi tedaviye direnç gelişebilmektedir (69). Bu nedenlerle bu ilaçlara alternatif olabilecek, yan etkisi düşük yeni bileşiklerin arayışı devam etmektedir (70).

Aromataz inhibitörleri etki mekanizmalarına ve yapılarına göre başlıca iki gruba ayrılmaktadır. Tip-1



Şekil 3. Steroidlerin meme dokusundaki biyotransformasyonunda yer alan enzimatik yollar. Melatonin selektif östrojen enzim modülatörü (SEEM) etkisiyle androjenlerin östrojenlere dönüşümünü katalizleyen enzimlerin (kırmızı renkli) ekspresyonunu ve aktivitesini inhibe ederken, östrojenlerin inaktif türevlerine dönüşümünde yer alan enzimlerin (yeşil renkli) ekspresyonunu ve aktivitesini artırmaktadır (59,71).

inhibitörler steroid yapılı androstendion türevi bileşiklerdir ve enzimin substrat bölgesine geri dönüşsüz olarak bağlanırlar. Tip-2 inhibitörler ise non-steroidal yapıdır. Enzimin “hem” grubuna geri dönüşlü olarak bağlanırlar ve büyük çoğunluğu triazol grubu taşımaktadır.

Tip-1 inhibitörler genellikle Tip-2 ajanlardan daha spesifik inhibitörlerdir (72). Formestan ve eksemestan gibi bazı tip-1 inhibitörlerin inhibitör etkinlikleri ihmal edilebilir düzeydedir. Fakat metabolizmaları sonucu oluşan ara ürünler enzimin aktif bölgesine geri dönüşsüz olarak bağlanarak enzimi inhibe etmektedir (73). Bu bileşikler kendi metabolizmalarını inhibe ettikleri için “intihtar inhibitörleri” olarak adlandırılırlar. Aromataz enzimi ile metabolize olmaları sonucu, kendilerini metabolize eden enzimi inhibe ettikleri için etkileri daha spesifiktir (72).

Tip 1 inhibitörlerin aksine Tip 2 inhibitörlerin etkisi geri dönüşlüdür. İnhibitör etkinin sürdürülebilmesi bileşiğin ortamdaki varlığına bağlıdır. Tip 2 inhibitörler aromataz enziminin yapısında bulunan “hem” grubuyla etkileşmektedir (74). Aromataz enziminin aminoasit dizilimi sitokrom P450 enzim ailesinin di-

ğer üyelerinden farklıdır (75). Bu farklılık aromataz enzimine selektif olarak inhibe eden ilaçların geliştirilmesine olanak sağlamaktadır (76).

Aromataz inhibitörleri geliştirilme zamanına göre de 3 gruba ayrılmaktadır (Tablo 1). Bunlar birinci, ikinci ve üçüncü kuşak inhibitörlerdir.

1. kuşak inhibitör olan **aminoglutetimit**, meme kanserinin tedavisinde kullanılan ve klinik çalışmalarda etkinliği gösterilen aromataz inhibitörü ilk ajandır (77). Plazma östrojen düzeylerini baskılamada kısmen etkilidir fakat etkisi spesifik değildir. Ayrıca aminoglutetimit, mide bulantısı, kusma, uyuşukluk ve uyku hali gibi çok sayıda yan etkiye neden olmaktadır (78). Bu nedenle daha iyi tolere edilebilen aromataz inhibitörleri geliştirilmiştir.
2. kuşak aromataz inhibitörleri steroidal inhibitör **formestan** ve non-steroidal **fadrazoldür**. **Formestan**, plasental mikrozoamlarda aromataz aktivitesini inhibe etmede aminoglutetimitten 60 kat daha potent olmakla birlikte oral biyoyararlanımı düşüktür (72). **Fadrazol** ise imidazol yapılı tip 2 aromataz inhibitörüdür. Birinci kuşak inhibi-

Tablo 1. Aromataz inhibitörlerinin sınıflandırılması

	<u>Tip 1 (Steroidal)</u>	<u>Tip 2 (Non-steroidal)</u>
1.Kuşak	-	Aminoglutetimit
2.Kuşak	Formestan	Fadrazol
	Eksemestan	Anastrazol
3.Kuşak		Letrazol

törlerden çok daha potent bir bileşik olsa da yarı ömrünün kısa oluşu, *in vivo* etkinliğinin düşük oluşu, kortizol ve aldosteron sentezini de inhibe etmesi nedeniyle günümüzde kullanımı yaygın değildir (72).

3. kuşak aromataz inhibitörleri nonsteroidal inhibitörler olan **anastrazol** ve **letrozol** ile steroidal inhibitör olan **eksemestan**dir (65). 3. kuşak inhibitörlerin hem *in vitro* hem de *in vivo* inhibitör etkinliği aminoglutetimitten çok daha potenttir. **Anastrazol**, letrozol ve eksemestanın miligramlık günlük dozu tüm vücuttaki aromatazasyonu inhibe etmekte ve dolaşımdaki östrojen seviyesi ölçülebilir düzeylerin altına düşmektedir (79). Anastrazol (Arimidex; Astra-Zeneca, Londra), 1 mg/gün dozda plazma östradiol seviyesini % 97 oranında inhibe etmektedir (65). **Letrozol** (Femara; Novartis, Basel, İsviçre)'ün 2,5 mg/gün dozu aromataz enzimini % 99'dan daha yüksek oranda inhibe etmektedir (80). İki hafta süreyle 0,1 mg/gün letrozol kullanımının dolaşımdaki östron, östron sülfat ve östradiol düzeylerinin % 95'ten fazlasını baskıladığı gösterilmiştir (81). **Eksemestan** (Aromasin; Pfizer, New York)'ün 25 mg'lik oral tek dozu plazma ve idrar östrojen düzeylerinde uzun süreli bir azalmaya neden olmaktadır (65,82).

4.3 Biyoaktivasyondan sorumlu enzimlerin modülasyonu

Kimyasallarla indüklenen meme kanserinin önlenmesinde bir diğer yaklaşım hormonal dengeyi bozmadan genotoksik metabolitlerin oluşumunu ve/veya etkilerini inhibe etmektir. Bu yolla hem meme kanserinin oluşumu hem de östrojenlerin yararlı etkilerinin ortadan kalkması önlenmiş olmaktadır (32).

Östrojenin metabolitlerinden kaynaklanan genotoksitenin önlenmesinde iki yaklaşım söz konusudur; östrojenin reaktif metabolitlerine dönüşümünü katalizleyen enzimlerin inhibisyonu, oluşan reaktif metabolitlerin detoksifikasyonundan sorumlu Faz II enzimlerinin indüksiyonu (32).

Östadiolün karaciğerde katekol metabolitlerine dönüşümü büyük oranda CYP3A ve CYP1A tarafından gerçekleştiriliyor olsa da bu enzimlerin inhibisyonu meme kanserinin önlenmesinde etkili olmamıştır (83). Bu metabolitler hepatik Faz II enzimleri tarafından konjugatlarına dönüştürülüp vücuttan uzaklaştırılmaktadırlar (84). Meme kanserinin etkili bir şekilde önlenmesi için meme dokusunda CYP1B1 inhibisyonu ile 4-OH katekol oluşumunu azaltmanın önemli bir yaklaşım olabileceği bildirilmiştir (85). Östradiolün CYP1B1 tarafından 4-OH katekol metabolitine dönüşmesi ve östrojene duyarlı dokularda bu metabolitin yüksek oranlarda bulunması tümör oluşumunda önemli rol oynar (28,86). CYP1B1 enziminin çeşitli kanser tiplerinde (meme, kolon, deri, beyin, testis vb.) normal dokulara kıyasla daha yüksek oranda ifade edildiği gösterilmiştir (86). CYP1B1 taşımayan farelerin DMBA ile indüklenen tümör oluşumuna karşı dirençli bulunması CYP1B1'in kanser oluşum sürecinde yer alan önemli bir enzim olduğunu göstermektedir (87). Diğer yandan CYP1B1 taşımayan farelerde yapılan çalışmalar bu enzimin eksprese edilmemesinin farenin normal gelişimini etkilemediğini, herhangi bir anomaliye neden olmadığını göstermektedir (88). CYP1B1 enziminin polimorfik olduğu da gösterilmiş ve *Leu* alleli homozigot olan kadınlarda meme kanseri riskinin arttığı bildirilmiştir (89). Bu bilgiler CYP1B1 enzimini selektif olarak inhibe eden yeni kemopreventif bileşiklerin geliştirilmesi için esas teşkil etmektedir (87).

İkinci yaklaşım da östrojenin metabolizması sırasında oluşan reaktif kinon metabolitlerinin detoksifikasyonunda rol alan NAD(P)H:kinon oksidoredüktaz (NQO1) enziminin indüklenmesidir. NQO1 indüksiyonunun kimyasallarla indüklenen kanser oluşumuna karşı koruyucu olduğunu gösteren *in vivo* çalışmalar bulunmaktadır (90).

Faz II enzimlerinin indüksiyonu katekol metabolitlerinin konjugasyonunun artmasını sağlamaktadır. Böylece redoks döngüsüne giren metabolit miktarı ve dolayısıyla kanser riski azalmaktadır. COMT enziminin inhibe edilmesi MCF-7 hücrelerinde E2 metabolizması sonucu oluşan DNA katım ürünlerinin, sıçanlarda ise tümör oluşumunun artmasına neden olmuştur (91). Bu veriler COMT enziminin E2 metabolizması sırasında oluşan reaktif metabolitlerin detoksifikasyonundaki önemini ortaya koymaktadır. Bunun yanında COMT enzim aktivitesi düşüklüğü ve GST polimorfizmi bulunan (GST genlerinin 2 tipini taşımayan) kadınlarda meme kanseri riskinin 4,1 kat arttığı bildirilmiştir (92). Bu da östrojenlerin biyoaktivasyonunun meme kanserindeki rolünü ve detoksifikasyon reaksiyonlarının korunmadaki önemini doğrulayan bir veridir.

5. Melatoninin Meme Kanserindeki Rolü

Melatonin pineal bezden salgılanan indol yapılı bir hormondur. Karanlıkta salgılanır ve gece 02.00-04.00 saatleri arasında plazma pik konsantrasyonuna ulaşır. Melatoninin başlıca fizyolojik rolü sirkadiyen ritmin düzenlenmesidir. Ayrıca mevsimsel üreme ritminin ve uyku-uyanıklık döngüsünün düzenlenmesi, antioksidan etki, immün sistemin modülasyonu gibi çok sayıda fizyolojik olayda rolü olduğu da bilinmektedir (93–97). Melatoninin başta meme kanseri olmak üzere farklı tümör tiplerinde onkostatik etkili olduğu bildirilmektedir (98,99). Epidemiyolojik çalışmalar vardiyalı çalışan kadınlarda, gece saatlerinde ışığa maruziyet sonucu melatonin düzeylerinin azaldığını göstermektedir. Bu durum ile ilişkili olarak sirkadyen ritimde bozulma, uykusuzluk ve meme kanseri riskinde artış olduğu bildirilmiştir (100–102).

Melatoninin meme kanserindeki onkostatik etkileri çok sayıda *in vitro* ve *in vivo* çalışma ile doğrulanmıştır (103–105). Bu etkinin reseptör aracılığı ile (SERM etkisi) ya da östrojenlerin dokularda lokal olarak sentezini sağlayan enzimlerin modülasyonu (SEEM etki) ile gerçekleştiği bildirilmiştir (99).

Melatonin ER ile etkileşerek reseptör modülatörü gibi etki göstermektedir. Melatoninin fizyolojik konsantrasyonlarda (1 nM), östrojene duyarlı MCF-7 insan meme kanseri hücrelerinde E2 ile indüklenen hücre proliferasyon ve invazyonunu önlediği bildirilmiştir (103,106). Melatoninin, E2 ile indüklenen büyüme faktörleri ve protoonkogenlerin ifadesini azalttığı, birlikte verildiğinde, tamoksifen gibi anti-östrojenlere duyarlılığı arttırdığı da görülmüştür (107–109). Melatoninin reseptör modülatör etkisi, diğer bileşiklerin aksine, doğrudan ER'ye bağlanmak veya östradiolün ER'ye bağlanmasını etkilemek suretiyle gerçekleşmemektedir (99,110,111). Melatonin ER α ekspresyonunu azaltmakta ve östrojen-östrojen reseptör (E2-ER) kompleksinin DNA üzerinde ERE'ye bağlanmasını engellemektedir (110–112). Melatoninin bu etkisini melatonin membran reseptörlerine (MT1) bağlanarak gerçekleştirdiği, MT1 reseptör ekspresyonundaki artışın, melatoninin meme kanseri hücre büyümesi üzerindeki baskılayıcı etkisini artırdığı da gösterilmiştir (113). MT1 reseptörü G proteinlerine bağlı bir reseptördür. Bu reseptörün melatonin tarafından aktive olması farklı G proteinlerini modüle etmekte ve böylece çok sayıda sinyal iletim yolağını etkilemektedir. Bunun sonucunda adenilat siklaz enzimi inhibe olmakta ve siklik adenozin monofosfat (cAMP) aktivitesi azalmaktadır. Melatoninin, MT1 reseptörlerine bağlanarak östrojenle indüklenen cAMP oluşumunu önlediği ve böylece ER α gen transkripsiyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. ER α reseptör düzeylerinde azalma sonucu kanserli dokunun östrojenlere yanıtı ve hücre proliferasyonu azalmaktadır (114).

Östrojenlerin lokal olarak sentezi farklı dokularda enzimatik olarak gerçekleşmektedir. Bu durum özellikle menopoz sonrası kadınlarda meme kanseri oluşumunda önemli bir faktördür. Melatoninin östrojen sentez ve metabolizması üzerinde de etkileri olduğu bildirilmektedir. Östrojenlerin sentez ve metabolizmasında rol alan enzimler ile melatoninin bu basamaklardaki etkisi Şekil 3'te gösterilmiştir. Melatonin östrojenlerin sentez basamaklarında aromataz, sülfataz ve 17 β -HSD1 ekspresyonunu ve aktivitesini inhibe etmektedir. Buna karşın östrojenin sülfat konjugasyonunu katalizleyen sülfotranferaz ekspresyonunu ve aktivitesini ise artırmaktadır (98,99). Melatoninin aromataz enzimi üzerindeki inhibitör etkisi DMBA ile indüklenen meme kanserli sıçanlarda *in vivo* olarak da kanıtlanmıştır. Bu modelde tümörlerin gelişimi östrojene bağımlı olduğundan overektomi-

ze edilmiş hayvanlarda tümör sayısı ve büyüklüğü önemli oranda azalmıştır. Overektomize edilen hayvanlara testosteron uygulandığında ise lokal olarak östrojen sentezi devam ettiğinden tümör büyümesi devam etmiştir. Testosteronla birlikte melatonin de verildiğinde, aromataz enzimi inhibe edildiğinden östrojen sentezlenememiş ve tümör büyümesi inhibe edilmiştir (115).

Östrojenlerin metabolizmasının ilk basamağında CYP1B1 enzimi ile hidroksile metabolitlerine dönüşümün yer aldığını ifade etmiştik (Şekil 2). Bu nedenle östradiolün 4-OH katekol metabolitlerine dönüşümünü inhibe etmenin meme kanserinin önlenmesinde bir hedef olabileceği düşünülmektedir (32). Yapılan bir çalışmada melatoninin CYP1B1, CYP1A1 ve CYP1A2 enzimlerini inhibe ettiği ve böylece prokarsinogenlerin toksik metabolitlerine dönüşümünü önleyebileceği ifade edilmektedir (116).

Lissoni ve arkadaşları tarafından 1990'lı yılların başında yürütülen klinik çalışmalar kanserli hastalarda melatonin kullanımının tedavide yarar sağladığına dair kanıtlar sunmaktadır (117–119). Tamoksifene yanıt vermeyen metastatik meme kanserli 14 kadında yapılan pilot bir çalışmada tedaviye melatonin eklenmesinin tümör büyüklüğünde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca melatoninin farklı kanser türlerinde metastatik hastaların sağ kalım süresini uzatırken, kemoterapiye bağlı yan etkilerin şiddet ve sıklığını da azalttığı belirtilmiştir (120).

Melatoninin aromataz inhibitörü ilaçlarla birlikte verildiğinde bu ilaçların aromataz inhibitör etkinliğini arttırdığı, kendi aromataz inhibitörü etkisiyle de tedaviye katkı sağladığı bildirilmiştir. Ayrıca aromataz inhibitörleriyle indüklenen osteoporozu azalttığı gösterilmiştir (121). Tamoksifen ve raloksifen gibi SERM bileşikleri ile birlikte kullanıldığında ise onların antiöstrojenik etkilerini artırmaktadır (98). Melatoninin antioksidan etkileri aracılığı ile radyoterapiden kaynaklanan yan etkileri azalttığı da bildirilmiştir. Böylece tedavide daha yüksek radyasyon dozlarına çıkılabilmekte ve tedavi etkinliği artırılabilmektedir (122).

Melatoninin antikarsinogenik etki mekanizmalarından biri de birçok farklı mekanizma aracılığı ile antioksidan etki gösteriyor oluşudur (123).

Toksitesinin çok düşük olması, antioksidan, antikarsinogenik etkilerinin olması ve fizyolojik etkilerinden dolayı melatoninin uyku bozuklukları, jet-lag,

bazı hormon bağımlı kanserler, depresyon gibi pek çok patolojik sürecin tedavisinde kullanılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir. Ancak melatonin molekülünün ilaç olarak kullanımı konusunda bazı kısıtlamalar bulunmaktadır. Melatoninin yarılanma ömrü kısadır ve çok hızlı bir şekilde metabolik inaktivasyona uğraması nedeniyle oral biyoyararlanımı çok düşüktür. Ayrıca patentlenebilir olmaması nedeniyle de ilaç endüstrisi tarafından üretimi cazip bulunmamaktadır. Bu nedenlerle yarılanma ömrü daha uzun ve daha etkin melatonin analoglarının sentezlenmesinin tedavi başarısını artırabileceği tartışılmaktadır (94).

Bizler de bugüne kadar yaptığımız çalışmalarda çok sayıda yeni sentezlenen melatonin türevi bileşiğin antioksidan etki potansiyellerini araştırdık. Bu çalışmalarda bazı bileşiklerin güçlü redüktan (hidrojen peroksit tarafından indüklenen oksidasyonu indirgeyici) ve radikal süpürücü etkiye sahip oldukları gözlenmiştir (124-126). Söz konusu antioksidan potansiyelleri nedeniyle bu bileşiklerin oksidatif stres ile ilişkili olduğu düşünülen kanser dâhil diyabet, ateroskleroz gibi birçok hastalıkta destekleyici tedavi ajanı olarak önerilebileceği düşünülmektedir.

Devam eden süreçte bu bileşiklerin bazılarının ER(+) meme kanseri hücrelerinde antiproliferatif etkili iken sağlıklı meme dokusunda sitotoksik olmadıkları gösterilmiştir. Olası ilaç etkin madde adayı olabilecek bazı bileşiklerin östrojen sinyal yolağı üzerindeki etkileri de araştırılmıştır. Melatonin analogu, 2-metil indol türevi bazı bileşiklerin aromataz enzimini inhibe ettiği *in vitro* olarak gösterilmiş, bu bulgular moleküler modelleme çalışmalarıyla da desteklenmiştir (127). Ayrıca çalışmalarımızda 1-etil indol türevi bazı melatonin analoglarının, hem aromataz enzimini inhibe ettiği hem de östrojen reseptör antagonisti etkiye sahip oldukları gösterilmiştir. Bu bileşiklerden bazıları insan rekombinant CYP1B1 enzimini de nanomolar konsantrasyon düzeylerinde inhibe etmiştir (henüz yayınlanmadı). Bazı bileşiklerin birden fazla mekanizma ile meme kanseri tedavisinde etki gösterebilecek oluşu ileri çalışmalar için umut vadedicidir.

Gatti ve ark. UCM1037 adlı melatonin türevi bileşiğin meme kanserinde antiproliferatif etkinliğini *in vitro* ve *in vivo* göstermişler fakat etkinin altında yatan mekanizmayı tam olarak aydınlatamamışlardır. Araştırmacılar bu bileşiğin antiproliferatif ve sitotoksik etkileri nedeniyle anti-kanser ilaçların etkinliğini artırmaya katkı sağlayabileceğini bildirmişlerdir (128).

Sonuç ve Öneriler

Günümüzde hormon bağımlı (ER+) meme kanserlerinin tedavi protokolleri ve tedavide kullanılan ajanlar oldukça başarılıdır. Bununla birlikte ana terapötik hedefe yönelik ajanlar olan ER antagonist ve aromataz inhibitörü ajanlara karşı direnç gelişmesi ve yan etkilerin görülmesi tedavide başlıca sorunlar arasında yer almaktadır. Bu durumlar araştırmacıları daha etkin ve daha az advers etkiye sahip, alternatif etkin madde arayışına yöneltmektedir.

Melatonin endojen indol yapılı bir hormon olup vücutta çok önemli fizyolojik rollere sahiptir. Hormon bağımlı meme kanseri de dahil birçok kanserde koruyucu/tedaviye yardımcı etkileri olduğunu gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Güncel bazı çalışmalarda tamoksifene dirençli olgularda melatoninin tedaviye yanıtı artırması ve diğer tedavi ajanlarının aksine yan etkisinin bulunmaması melatoninin meme kanserinde önleyici ve destekleyici tedavi etkisi nedeniyle kullanılabilmesi yönündeki düşünceleri güçlendirmiştir. Bununla birlikte melatoninin molekülünün yarılanma ömrünün kısa, oral biyoyararlanımının düşük olması ilaç olarak kullanımını kısıtlamakta ve araştırmacıları yarılanma ömrü daha uzun yeni melatonin türevlerinin sentezlenmesi, etkinlik ve güvenliliklerinin değerlendirilmesi çalışmalarına yöneltmektedir. Yeni sentezlenen melatonin türevi bazı bileşiklerin meme kanseri tedavisinde, mevcut tedavi ajanlarına alternatif olmasa bile SERM ve SEEM etkileri nedeniyle destekleyici ajan olarak kullanılabilirleri düşünülmektedir. Ayrıca kanser tedavi sürecinde en sık görülen semptomlar olan anksiyete, depresyon, uyku bozuklukları gibi durumların tedavisine katkı sağlamları da mümkündür. Bunların yanında, antioksidan etkileri nedeniyle radyoterapiden kaynaklanan yan etkilere karşı koruyucu olabilecekleri beklenmektedir. Böylece tedaviye yüksek dozlara çıkılması ve etkinliğin artırılması mümkün olabilecektir. Bu konuda ileri çalışmaların gerçekleştirilmesi gerekmektedir.

Kaynaklar

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F: Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015, 136(5):E359–86.
2. Dorgan JF, Longcope C, Stephenson HE, Falk RT, Miller R, Franz C, Kahle L, Campbell WS, Tangrea JA, Schatzkin A: Relation of prediagnostic serum estrogen and androgen levels to breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers* 1996, 5(7):533–9.
3. Thomas H, Key T, Allen D, Moore J, Dowsett M, Fentiman I, Wang DY: A prospective study of endogenous serum hormone concentrations and breast cancer risk in post-menopausal women on the island of Guernsey. *Br J Cancer* 1997, 76(3):401–5.
4. Hankinson SE, Willett WC, Manson JE, Colditz GA, Hunter DJ, Spiegelman D, Barbieri RL, Speizer FE: Plasma Sex Steroid Hormone Levels and Risk of Breast Cancer in Postmenopausal Women. *JNCI J Natl Cancer Inst* 1998, 90(17):1292–9.
5. Kabuto M, Akiba S, Stevens RG, Neriishi K, Land CE: A Prospective Study of Estradiol and Breast Cancer in Japanese Women 1. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2000, 9:575–79.
6. Yue W, Yager JD, Wang JP, Jupe ER, Santen RJ: Estrogen receptor-dependent and independent mechanisms of breast cancer carcinogenesis. *Steroids* 2013,78(2):161–70.
7. Blows FM, Driver KE, Schmidt MK, Broeks A, van Leeuwen FE, Wesseling J, Cheang MC, Gelmon K, Nielsen TO, Blomqvist C, Heikkilä P, Heikkinen T, Nevanlinna H, Akslen LA, Begin LR, Foulkes WD, Couch FJ, Wang X, Cafourek V, Olson JE, Baglietto L, Giles GG, Severi G, McLean CA, Southey MC, Rakha E, Green AW, Ellis IO, Sherman ME, Lissowska J, Anderson WF, Cox A, Cross SS, Reed MWR, Provenzano E, Dawson SJ, Dunning AM, Humphreys M, Easton DF, Garcia-Closas M, Caldas C, Pharoah PD, Huntsman D: Subtyping of breast cancer by immunohistochemistry to investigate a relationship between subtype and short and long term survival: A collaborative analysis of data for 10,159 cases from 12 studies. *PLoS Medicine* 2010, 7(5): e1000279.
8. Perou CM, Surlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffreyk SS, Rees CA, Pollack JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA, Fluges E, Pergamenschikovning A, Williams C, Zhu SX, Lonning PE, Borresen-Dale AL, Brown PO, Botstein D: Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000, 406(6797):747–52.
9. Reis-Filho JS, Pusztai L: Gene expression profiling in breast cancer: Classification, prognostication, and prediction. *The Lancet* 2011, 378:1812–23.
10. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn HJ: Strategies for subtypes-dealing with the diversity of breast cancer: Highlights of the St Gallen international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer. *Ann Oncol.* 2011, 22(8):1736–47.
11. Alteri R, Barnes C, Burke A, Gansler T, Gapstur S, Gaudet M, Kramer J, Newman LA, Niemeier D, Richards C, Runowicz C, Saslow D, Simpson S, Smith R, Sullivan K, Wagner D, Xu J: Breast Cancer Facts & Figures 2013-2014. *Am Cancer Soc* 2014;38. <http://www.cancer.org/acs/groups/content/@research/documents/document/acspc-040951.pdf>

12. Perou CM, Borresen-Dale A-L: Systems Biology and Genomics of Breast Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011, 3(2):a003293–a003293.
13. Simpson ER: Sources of estrogen and their importance. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003, 86:225–30.
14. Clemons M, Goss P: Estrogen and the risk of breast cancer. *N Engl J Med* 2001, 344(4):276–85.
15. Henderson BE, Ross R, Bernstein L: Estrogens as a cause of human cancer: the Richard and Hinda Rosenthal Foundation award lecture. *Cancer Res* 1988, 48(2):246–53.
16. Roy D, Abul-Hajj YJ: Estrogen-nucleic acid adducts: Guanine is major site for interaction between 3,4-estrone quinone and COIII gene. *Carcinogenesis* 1997, 18(6):1247–9.
17. Roy D, Cai Q, Felty Q, Narayan S: Estrogen-Induced Generation of Reactive Oxygen and Nitrogen Species, Gene Damage, and Estrogen-Dependent Cancers. *J Toxicol Environ Heal Part B* 2007, 10(4):235–57.
18. Bernstein L, Ross RK: Endogenous Hormones and Breast Cancer Risk. *Epidemiol Rev* 1993, 15(1):48–65.
19. Xu W-H, Xiang Y-B, Ruan Z-X, Zheng W, Cheng J-R, Dai Q, Gao, Y-T, Shu, X-O: Menstrual and reproductive factors and endometrial cancer risk: Results from a population-based case-control study in urban Shanghai. *Int J Cancer* 2004, 108(4):613-9.
20. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer: Breast cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data on 53 297 women with breast cancer and 100 239 women without breast cancer from 54 epidemiological studies. *Lancet (London, England)* 1996, 347(9017):1713–27.
21. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer: Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52,705 women with breast cancer and 108,411 women without breast cancer. *Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Lancet (London, England)* 1997, 350(9084):1047–59.
22. Preston-Martin S, Pike MC, Ross RK, Jones PA, Henderson BE: Increased cell division as a cause of human cancer. *Cancer Res* 1990, 50(23):7415–21.
23. Yue, Santen RJ, Wang JP, Li Y, Verderame MF, Bocchinfuso WP, Korach KS, Devanesan P, Todorovic R, Rogan EG, Cavalieri EL: Genotoxic metabolites of estradiol in breast: Potential mechanism of estradiol induced carcinogenesis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003, 86(3–5):477–86.
24. Kumar V, Chambon P: The estrogen receptor binds tightly to its responsive element as a ligand-induced homodimer. *Cell* 1988, 55(1):145–56.
25. Gruber CJ, Tschugguel W, Schneeberger C, Huber JC: Production and actions of estrogens. *N Engl J Med* 2002, 346(5):340–52.
26. Hall JM, McDonnell DP: Coregulators in Nuclear Estrogen Receptor Action: From Concept to Therapeutic Targeting. *Mol Interv* 2005, 5(6):343–57.
27. Cavalieri E, Chakravarti D, Guttenplan J, Hart E, Ingle J, Jankowiak R, Muti P, Rogan E, Russo J, Santen R, Sutter T: Catechol estrogen quinones as initiators of breast and other human cancers: Implications for biomarkers of susceptibility and cancer prevention. *Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer* 2006, 1766: 63–78.
28. Cavalieri EL, Rogan EG: Unbalanced metabolism of endogenous estrogens in the etiology and prevention of human cancer. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 2011, 125: 169–80.
29. Rogan EG, Badawi AF, Devanesan PD, Meza JL, Edney JA, West WW, Higginbotham SM, Cavalieri EL: Relative imbalances in estrogen metabolism and conjugation in breast tissue of women with carcinoma: potential biomarkers of susceptibility to cancer. *Carcinogenesis* 2003, 24(4):697–702.
30. Cavalieri EL, Rogan EG: The etiology and prevention of breast cancer. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms* 2012, 9: e55–69.
31. Cavalieri E, Rogan E: The molecular etiology and prevention of estrogen-initiated cancers: Ockham's Razor: Pluralitas non est ponenda sine necessitate. Plurality should not be posited without necessity. *Mol Aspects Med* 2014, 36(1):1–55.
32. Liehr JG. Breast carcinogenesis and its prevention by inhibition of estrogen genotoxicity. In: *Endocrine Therapy in Breast Cancer*. Marcel Dekker Inc: New York, USA. 2002: pp 1–18.
33. Yager JD: Mechanisms of estrogen carcinogenesis: The role of E2/E1-quinone metabolites suggests new approaches to preventive intervention - A review. *Steroids* 2015, 99(Pt A): 56–60.
34. Singh S, Chakravarti D, Edney JA, Hollins RR, Johnson PJ, West WW, Higginbotham SM, Cavalieri EL, Rogan EG: Relative imbalances in the expression of estrogen-metabolizing enzymes in the breast tissue of women with breast carcinoma. *Oncol Rep* 2005, 14(4):1091–6.
35. Yang L, Zahid M, Liao Y, Rogan EG, Cavalieri EL, Davidson NE, Yager JD, Visvanathan K, Groopman JD, Kensler TW: Reduced formation of depurinating estrogen-DNA adducts by sulforaphane or KEAP1 disruption in human mammary epithelial MCF-10A cells. *Carcinogenesis* 2013, 34(11):2587–92.
36. Zahid M, Gaikwad NW, Ali MF, Lu F, Saeed M, Yang L, Rogan EG, Cavalieri EL: Prevention of estrogen-DNA adduct formation in MCF-10F cells by resveratrol. *Free Radic Biol Med* 2008, 45(2):136–45.
37. Beatson GT: On the Treatment of Inoperable Cases of Carcinoma of the Mamma: Suggestions for a New Method of Treatment, with Illustrative Cases. *Trans Medico-Chirurgical Soc Edinburgh* 1896, 15:153–79.

38. Barker S: Anti-estrogens in the treatment of breast cancer: current status and future directions. *Curr Opin Investig Drugs* 2003, 4(6):652–7.
39. Wong ZW, Ellis MJ: First-line endocrine treatment of breast cancer: aromatase inhibitor or antioestrogen? *Br J Cancer* 2004, 90(1):20–5.
40. Oseni T, Patel R, Pyle J, Jordan V: Selective Estrogen Receptor Modulators and Phytoestrogens. *Planta Med* 2008, 74(13):1656–65.
41. Nilsson S, Koehler KF: Oestrogen Receptors and Selective Oestrogen Receptor Modulators: Molecular and Cellular Pharmacology. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2005, 96(1):15–25.
42. McKenna NJ, Lanz RB, O'Malley BW: Nuclear Receptor Coregulators: Cellular and Molecular Biology. *Endocr Rev* 1999, 20(3):321–44.
43. Smith CL, Nawaz Z, O'Malley BW: Coactivator and Corepressor Regulation of the Agonist/Antagonist Activity of the Mixed Antiestrogen, 4-Hydroxytamoxifen. *Mol Endocrinol* 1997, 11(6):657–66.
44. Jordan VC: Tamoxifen: Catalyst for the change to targeted therapy. *Eur. J. Cancer* 2008, 44:30–8.
45. Shang Y, Brown M: Molecular determinants for the tissue specificity of SERMs. *Science* 2002, 295(5564):2465–8.
46. Riggs BL, Hartmann LC: Selective Estrogen-Receptor Modulators — Mechanisms of Action and Application to Clinical Practice. *The new england journal of medicine* 2003, 348(12):1–12.
47. Baum M, Budzar AU, Cuzick J, Forbes J, Houghton JH, Klijn JGM, Sahmoud T, ATAC Trialists Group: Anastrozole alone or in combination with tamoxifen versus tamoxifen alone for adjuvant treatment of postmenopausal women with early breast cancer: first results of the ATAC randomised trial. *Lancet (London, England)* 2002, 359(9324):2131–9.
48. Assikis VJ, Neven P, Jordan VC, Vergote I: A realistic clinical perspective of tamoxifen and endometrial carcinogenesis. *Eur J Cancer* 1996, 32A(9):1464–76.
49. Black LJ, Jones CD, Falcone JF: Antagonism of estrogen action with a new benzothiophene derived antiestrogen. *Life Sci* 1983, 32(9):1031–6.
50. Gottardis MM, Jordan VC: Antitumor actions of keoxifene and tamoxifen in the N-nitrosomethylurea-induced rat mammary carcinoma model. *Cancer Res* 1987, 47(15):4020–4.
51. Gottardis MM, Ricchio ME, Satyaswaroop PG, Jordan VC: Effect of steroidal and nonsteroidal antiestrogens on the growth of a tamoxifen-stimulated human endometrial carcinoma (EnCa101) in athymic mice. *Cancer Res* 1990, 50(11):3189–92.
52. Jordan VC, Phelps E, Lindgren JU: Effects of anti-estrogens on bone in castrated and intact female rats. *Breast Cancer Res Treat* 1987, 10(1):31–5.
53. Wakeling AE: Similarities and distinctions in the mode of action of different classes of antioestrogens. *Endocr Relat Cancer* 2000, 7(1):17–28.
54. Howell A, Osborne CK, Morris C, Wakeling AE: ICI 182,780 (Faslodex): development of a novel, “pure” antiestrogen. *Cancer* 2000, 89(4):817–25.
55. Wakeling AE, Dukes M, Bowler J: A potent specific pure antiestrogen with clinical potential. *Cancer Res* 1991, 51(15):3867–73.
56. Wade GN, Blaustein JD, Gray JM, Meredith JM: ICI 182,780: a pure antiestrogen that affects behaviors and energy balance in rats without acting in the brain. *Am J Physiol* 1993, 265(6 Pt 2):R1392-8.
57. Robertson JF: Estrogen receptor downregulators: New anti-hormonal therapy for advanced breast cancer. *Clin Ther* 2002, 24(SUPPL. A).
58. Miller WR: Endocrine treatment for breast cancers: biological rationale and current progress. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1990, 37(4):467–80.
59. Pasqualini JR, Chetrite GS: Recent insight on the control of enzymes involved in estrogen formation and transformation in human breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005, 93(2–5): 221–36.
60. Suzuki T, Miki Y, Nakata T, Shiotsu Y, Akinaga S, Inoue K, Ishida T, Kimura M, Moriya T, Sasano H: Steroid sulfatase and estrogen sulfotransferase in normal human tissue and breast carcinoma. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003, 86(3–5):449–54.
61. Hilborn E, Stal O, Jansson A: Estrogen and androgen-converting enzymes 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase and their involvement in cancer: with a special focus on 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1, 2, and breast cancer. *Oncotarget* 2017, 8(18).
62. Bulun S, Zeitoun K, Sasano H, Simpson E: Aromatase in Aging Women. *Semin Reprod Med* 1999, 17(04):349–58.
63. Simpson E, Rubin G, Clyne C, Robertson K, O'Donnell L, Davis S, Jones, M: Local estrogen biosynthesis in males and females. *Endocr Relat Cancer*. 1999, 6(2):131–7.
64. Berry J: Are all aromatase inhibitors the same? A review of controlled clinical trials in breast cancer. *Clin Ther* 2005, 27(11):1671–84.
65. Brueggemeier RW, Hackett JC, Diaz-Cruz ES: Aromatase inhibitors in the treatment of breast cancer. *Endocr Rev* 2005, 26(3):331–45.
66. Ghosh D, Lo J, Egbuta C: Recent Progress in the Discovery of Next Generation Inhibitors of Aromatase from the Structure-Function Perspective. *J Med Chem* 2016, 59(11):5131–48.

67. Dizdar O, Ozçakar L, Malas FU, Harputluoglu H, Bulut N, Aksoy S, Ozisik Y, Altundag K: Sonographic and electrodiagnostic evaluations in patients with aromatase inhibitor-related arthralgia. *J Clin Oncol* 2009, 27(30):4955–60.
68. Tomao F, Spinelli G, Vici P, Pisanelli GC, Casciulli G, Frati L, Panici PB, Tomao S: Current role and safety profile of aromatase inhibitors in early breast cancer. *Expert Rev Anticancer Ther* 2011, 11(8):1253–63.
69. Jansen MPH, Knijnenburg T, Reijm EA, Simon I, Kerkhoven R, Droog M, Velds A, van Laere S, Dirix L, Alexi X, Foekens JA, Wessels L, Linn SC, Berns EMJJ, Zwart W: Hallmarks of aromatase inhibitor drug resistance revealed by epigenetic profiling in breast cancer. *Cancer Res* 2013, 73(22):6632–41.
70. Prior AM, Yu X, Park EJ, Kondratyuk TP, Lin Y, Pezzuto JM, Sun D: Structure-activity relationships and docking studies of synthetic 2-arylidole derivatives determined with aromatase and quinone reductase 1. *Bioorganic Med Chem Lett* 2017, 27(24):5393–9.
71. González-González A, Mediavilla MD, Sánchez-Barceló EJ: Melatonin: A Molecule for Reducing Breast Cancer Risk. *Molecules* 2018, 23(2):336.
72. Jordan C, Furr BJA. An Introduction to the Regulation of Sex Steroids for the Treatment of Cancer. In: *Hormone Therapy in Breast and Prostate Cancer*. Humana Press; 2006: pp 1–16.
73. Johnston JO: Aromatase inhibitors. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 1998, 33(5):375–405.
74. Kao YC, Cam LL, Laughton CA, Zhou D, Chen S: Binding characteristics of seven inhibitors of human aromatase: a site-directed mutagenesis study. *Cancer Res* 1996, 56(15):3451–60.
75. Vanden Bossche HV, Moereels H, Koymans LM: Aromatase inhibitors--mechanisms for non-steroidal inhibitors. *Breast Cancer Res Treat* 1994, 30(1):43–55.
76. Santen RJ, Misbin RI: Aminoglutethimide: review of pharmacology and clinical use. *Pharmacotherapy* 1981, 1(2):95–120.
77. Lipton A, Santen RJ: Proceedings: Medical adrenalectomy using aminoglutethimide and dexamethasone in advanced breast cancer. *Cancer* 1974, 33(2):503–12.
78. Hughss SW, Burley DM: Aminoglutethimide: a vequot;side-effectvequot; turned to therapeutic advantage. *Postgraduate Medical Journal* 1970, 46(537):409–16.
79. Lonning PE: Aromatase inhibition for breast cancer treatment. *Acta Oncol* 1996, 35 Suppl 5:38–43.
80. Dowsett M, Jones A, Johnston SR, Jacobs S, Trunet P, Smith IE: In vivo measurement of aromatase inhibition by letrozole (CGS 20267) in postmenopausal patients with breast cancer. *Clin Cancer Res* 1995, 1(12):1511–5.
81. Demers LM: Effects of Fadrozole (CGS 16949A) and Letrozole (CGS 20267) on the inhibition of aromatase activity in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 1994, 30(1):95–102.
82. Evans TR, Di Salle E, Ornati G, Lassus M, Benedetti MS, Pianezzola E, Coombes RC: Phase I and endocrine study of exemestane (FCE 24304), a new aromatase inhibitor, in postmenopausal women. *Cancer Res* 1992, 52(21):5933–9.
83. Hammond DK, Zhu BT, Wang MY, Ricci MJ, Liehr JG: Cytochrome P450 metabolism of estradiol in hamster liver and kidney. *Toxicol Appl Pharmacol* 1997, 145(1):54–60.
84. Raftogianis R, Creveling C, Weinshilboum R, Weisz J: Estrogen metabolism by conjugation. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2000, (27):113–24.
85. Hayes CL, Spink DC, Spink BC, Cao JQ, Walker NJ, Sutter TR: 17 beta-estradiol hydroxylation catalyzed by human cytochrome P450 1B1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996, 93(18):9776–81.
86. Gajjar K, Martin-Hirsch PL, Martin FL: CYP1B1 and hormone-induced cancer. *Cancer Lett* 2012, 324(1):13–30.
87. Chun YJ, Kim S: Discovery of Cytochrome P450 1B1 Inhibitors as New Promising Anti-Cancer Agents. *Med Res Rev* 2003, 23(6):657–68.
88. Bruno RD, Njar VCO: Targeting cytochrome P450 enzymes: a new approach in anti-cancer drug development. *Bioorg Med Chem* 2007, 15(15):5047–60.
89. Zheng W, Xie DW, Jin F, Cheng JR, Dai Q, Wen WQ, Shu XO, Gao YT: Genetic polymorphism of cytochrome P450-1B1 and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000, 9(2):147–50.
90. Cuendet M, Oteham CP, Moon RC, Pezzuto JM: Quinone reductase induction as a biomarker for cancer chemoprevention. *J Nat Prod* 2006, 69(3):460–3.
91. Lavigne JA, Goodman JE, Fonong T, Odwin S, He P, Roberts DW, Yager JD: The effects of catechol-O-methyltransferase inhibition on estrogen metabolite and oxidative DNA damage levels in estradiol-treated MCF-7 cells. *Cancer Res* 2001, 61(20):7488–94.
92. Ritchie MD, Hahn LW, Roodi N, Bailey LR, Dupont WD, Parl FF, et al. Multifactor-Dimensionality Reduction Reveals High-Order Interactions among Estrogen-Metabolism Genes in Sporadic Breast Cancer. *Am J Hum Genet*. 2001, 69(1):138–47.
93. Acuña Castroviejo D, López LC, Escames G, López A, García JA, Reiter RJ: Melatonin-mitochondria interplay in health and disease. *Curr Top Med Chem* 2011, 11:221–40.
94. Sanchez-Barcelo EJ, Martinez-Campa CM, Mediavilla MD, Gonzalez A, Alonso-Gonzalez C, Cos S: Melatonin and

- Melatoninergic Drugs as Therapeutic Agents: Ramelteon and Agomelatine, the Two Most Promising Melatonin Receptor Agonists. *Recent Patents on Endocrine, Metabolic & Immune Drug Discovery* 2007, 1: 142–51.
95. Karasek M, Winczyk K: Melatonin in humans. *J Physiol Pharmacol* 2006, 57 Suppl 5:19–39.
 96. Reiter RJ, Tan DX, Mayo JC, Sainz RM, Leon J, Czarnecki Z: Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanisms and pathophysiological implications in humans. *Acta Biochim Pol* 2003, 50(4):1129–46.
 97. Reiter RJ, Tan DX, Manchester LC, Pilar Terron M, Flores LJ, Koppisepi S: Medical implications of melatonin: receptor-mediated and receptor-independent actions. *Adv Med Sci* 2007, 52:11–28.
 98. Cos S, González A, Martínez-Campa C, Mediavilla MD, Alonso-González C, Sánchez-Barceló EJ: Melatonin as a selective estrogen enzyme modulator. *Curr Cancer Drug Targets* 2008, 8(8):691–702.
 99. Sánchez-Barceló EJ, Cos S, Mediavilla D, Martínez-Campa C, González A, Alonso-González C: Melatonin-estrogen interactions in breast cancer. *J Pineal Res* 2005, 38(4):217–22.
 100. Davis S, Mirick DK, Stevens RG: Night shift work, light at night, and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2001, 93(20):1557–62.
 101. Hansen J: Increased breast cancer risk among women who work predominantly at night. *Epidemiology* 2001, 12(1):74–7.
 102. Reiter RJ, Tan DX, Erren TC, Fuentes-Broto L, Paredes SD: Light-mediated perturbations of circadian timing and cancer risk: a mechanistic analysis. *Integr Cancer Ther* 2009, 8(4):354–60.
 103. Cos S, Sánchez-Barceló EJ: Melatonin and mammary pathological growth. *Front Neuroendocrinol* 2000, 21(2):133–70.
 104. Hill SM, Blask DE: Effects of the pineal hormone melatonin on the proliferation and morphological characteristics of human breast cancer cells (MCF-7) in culture. *Cancer Res* 1988, 48(21):6121–6.
 105. Sánchez-Barceló EJ, Cos S, Fernández R, Mediavilla MD: Melatonin and mammary cancer: a short review. *Endocr Relat Cancer* 2003, 10(2):153–9.
 106. Cos S, Fernández R, Güémez A, Sánchez-Barceló EJ: Influence of melatonin on invasive and metastatic properties of MCF-7 human breast cancer cells. *Cancer Res* 1998, 58(19):4383–90.
 107. Mediavilla MD, Güémez A, Ramos S, Kothari L, Garijo F, Sánchez Barceló EJ: Effects of melatonin on mammary gland lesions in transgenic mice overexpressing N-ras proto-oncogene. *J Pineal Res* 1997, 22(2):86–94.
 108. Molis TM, Spriggs LL, Jupiter Y, Hill SM: Melatonin modulation of estrogen-regulated proteins, growth factors, and proto-oncogenes in human breast cancer. *J Pineal Res* 1995, 18(2):93–103.
 109. Wilson ST, Blask DE, Lemus-Wilson AM: Melatonin augments the sensitivity of MCF-7 human breast cancer cells to tamoxifen in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 1992, 75(2):669–70.
 110. Molis T, Walters M, Hill S: Melatonin modulation of estrogen-receptor expression in mcf-7 human breast-cancer cells. *Int J Oncol* 1993, 3(4):687–94.
 111. Molis TM, Spriggs LL, Hill SM: Modulation of estrogen receptor mRNA expression by melatonin in MCF-7 human breast cancer cells. *Mol Endocrinol* 1994, 8(12):1681–90.
 112. Rato AG, Pedrero JG, Martínez MA, del Rio B, Lazo PS, Ramos S: Melatonin blocks the activation of estrogen receptor for DNA binding. *FASEB J* 1999, 13(8):857–68.
 113. Yuan L, Collins AR, Dai J, Dubocovich ML, Hill SM: MT1 melatonin receptor overexpression enhances the growth suppressive effect of melatonin in human breast cancer cells. *Mol Cell Endocrinol* 2002, 192(1–2):147–56.
 114. Lai L, Yuan L, Chen Q, Dong C, Mao L, Rowan B, Frasch T, Hill SM: The Galphai and Galphaq proteins mediate the effects of melatonin on steroid/thyroid hormone receptor transcriptional activity and breast cancer cell proliferation. *J Pineal Res* 2008, 45(4):476–88.
 115. Cos S, González A, Martínez-Campa C, Mediavilla MD, Alonso-González C, Sánchez-Barceló EJ: Estrogen-signaling pathway: a link between breast cancer and melatonin oncogenic actions. *Cancer Detect Prev* 2006, 30(2):118–28.
 116. Chang TKH, Chen J, Yang G, Yeung EYH: Inhibition of pro-carcinogen-bioactivating human CYP1A1, CYP1A2 and CYP1B1 enzymes by melatonin. *J Pineal Res* 2010, 48(1):55–64.
 117. Lissoni P, Barni S, Cattaneo G, Tancini G, Esposti G, Esposti D, Fraschini F: Clinical results with the pineal hormone melatonin in advanced cancer resistant to standard antitumor therapies. *Oncology* 1991, 48(6):448–50.
 118. Lissoni P, Barni S, Ardizzioia A, Tancini G, Conti A, Maestroni G: A randomized study with the pineal hormone melatonin versus supportive care alone in patients with brain metastases due to solid neoplasms. *Cancer* 1994, 73(3):699–701.
 119. Lissoni P, Barni S, Meregalli S, Fossati V, Cazzaniga M, Esposti D, Tancini G: Modulation of cancer endocrine therapy by melatonin: a phase II study of tamoxifen plus melatonin in metastatic breast cancer patients progressing under tamoxifen alone. *Br J Cancer* 1995, 71(4):854–6.
 120. Panzer A, Viljoen M: The validity of melatonin as an oncogenic agent. *J Pineal Res* 1997, 22(4):184–202.
 121. Sanchez-Barcelo EJ, Mediavilla MD, Alonso-Gonzalez C, Reiter RJ: Melatonin uses in oncology: breast cancer prevention

- and reduction of the side effects of chemotherapy and radiation. *Expert Opin Investig Drugs* 2012, 21(6):819–31.
122. Shirazi A, Mihandoost E, Mohseni M, Ghazi-Khansari M, Rabie Mahdavi S: Radio-protective effects of melatonin against irradiation-induced oxidative damage in rat peripheral blood. *Phys Medica* 2013, 29(1):65–74.
123. Manchester LC, Coto-Montes A, Boga JA, Andersen LPH, Zhou Z, Galano A, Vriend J, Tan DX, Reiter RJ: Melatonin: An Ancient Molecule That Makes Oxygen Metabolically Tolerable. *Journal of Pineal Research* 2015, 59: 403-19.
124. Gurer-Orhan H, Karaaslan C, Ozcan S, Firuzi O, Tavakkoli M, Saso L, Suzen S: Novel indole-based melatonin analogues: Evaluation of antioxidant activity and protective effect against amyloid β -induced damage. *Bioorganic ve Medicinal Chemistry* 2016, 24(8): 1658–64.
125. Shirinzadeh H, Ince E, Westwell AD, Gurer-Orhan H: Novel indole-based melatonin analogues substituted with triazole, thiadiazole and carbothioamides : studies on their antioxidant, chemopreventive and cytotoxic activities. *Journal Of Enzyme Inhibition And Medicinal Chemistry* 2016, 31: 1312-21.
126. Karaaslan C, Ince E, Gurer-Orhan H, Tavakkoli M, Firuzi O, Saso L, Suzen S: Behaviour of 9-Ethyl-9H-carbazole Hydrazone Derivatives Against Oxidant Systems: Protective Effect on Amyloid β -Induced Damage. *Croat Chem Acta* 2019, 92(1):87–94.
127. Ozcan-Sezer S, Ince E, Akdemir A, Ceylan Ö, Suzen S, Gurer Orhan H: Aromatase inhibition by 2-methyl indole hydrazone derivatives evaluated via molecular docking and in vitro activity studies. *Xenobiotica* 2018, 1-8.
128. Gatti G, Lucini V, Dugnani S, Calastretti A, Spadoni G, Bedini A, Rivara S, Mor M, Canti G, Scaglione F, Bevilacqua A: Antiproliferative and pro-apoptotic activity of melatonin analogues on melanoma and breast cancer cells. *Oncotarget* 2017, 8(40):68338–53.