

EFEITO DO TRATAMENTO COM MELATONINA SOBRE A PRODUÇÃO DE METÁSTASES NEOPLÁSICAS

*Result of the treatment with melatonin in
the production of neoplastic metastasis*

Daiana Moreli Soares dos Santos¹
Dulce Helena Jardim Constantino¹

¹Centro de Ciências da Saúde,
Universidade do Sagrado
Coração, USC, Bauru, SP.

SANTOS, Daiana Moreli dos e CONSTANTINO, Dulce Helena Jardim. Efeito do tratamento com melatonina sobre a produção de metástases neoplásicas. *SALUSVITA*, Bauru, v. 34, n. 1, p. 71-86, 2015.

RESUMO

Introdução: Neoplasias são células com proliferação e diferenciação anormais. Quando essas células tornam-se capazes de originar outras células em tecidos e vasos diferentes do inicial são denominadas metástases. A melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) é um hormônio secretado pela glândula pineal e que tem associação com o controle celular tumoral. **Objetivo:** pretendeu-se avaliar o efeito do tratamento com melatonina sobre a produção e crescimento de metástase linfática do tumor sólido de Ehrlich (TE) em camundongos. **Método:** foram empregados 14 camundongos distribuídos em 2 grupos: controle (GC, N = 07 / 0,1ml de solução fisiológica, via oral, 1x/dia) e teste (GT, N = 07 / 10mg/kg de melatonina, via oral, 1x/

Recebido em: 28/10/2015
Aceito em: 02/02/2015

dia). Todos os animais foram inoculados com 10^6 células tumorais no coxim plantar da pata traseira direita. **Resultados e Discussão:** D=decorridos 17 dias de tratamento os animais foram eutanasiados, removemos as 02 patas traseiras para avaliar o peso da massa tumoral sendo que o grupo controle apresentou peso maior ($GC = 0,62 \pm 0,14$). Também foi removido o linfonodo poplíteo para mensuração da área, constatando redução significativa no grupo teste ($GT = 4,37 \pm 1,58$). A redução da área do linfonodo pode ser associada a uma redução no número de células tumorais presentes nos linfonodos ($GT = 62,8 \pm 13,07$). **Conclusão:** Concluimos que o tratamento com melatonina reduziu significativamente o crescimento tumoral e metastático do TE.

Palavras-chave: Metástase. Melatonina. Tumor de Ehrlich. Linfonodo.

ABSTRACT

Introduction: *Neoplasms are cells with unusual proliferation and differentiation. When these cells become able to generate other cells in material and veins different from the beginning one are named metastasis. The melatonin (N-acetil-5-methoxytryptamine) is a hormone secreted by the pineal gland and it has association with the tumor cell control.* **Objective:** *the general aim was to evaluate the treatment result with melatonin on the metastasis lymphatic production and growth of the Ehrlich Tumor in mice. For this experience, 14 mice were used and shared in 2 groups: control (GC, N = 07 / 0,1ml of sterilizing solution, oral, once a day) and test (GT, N = 07 / 10mg/kg of melatonin, oral, once a day). All the animals were inoculated with 10^6 tumor cells in the footpad of the right back paw.* **Results and discussion:** *after 17 days of treatment the animals were euthanized and 2 back paws were removed to evaluate the tumor bulk weight considering that the control group was heavier ($GC = 0,62 \pm 0,14$). The popliteal lymph node was also removed for the area measurement where a smaller area for the test group was observed ($GT = 62,8 \pm 13,07$).* **Conclusion:** *we concluded that the treatment with melatonin meaningfully reduced the metastatic growth.*

Key-Words: *Metastasis. Melatonin. Ehrlich Tumor. Lymph node.*

SANTOS, Daiana Moreli dos e CONSTANTINO, Dulce Helena Jardim. Efeito do tratamento com melatonina sobre a produção de metástases neoplásicas. *SALUSVITA*, Bauru, v. 34, n. 1, p. 71-86, 2015.

SANTOS, Daiana Moreli
dos e CONSTANTINO,
Dulce Helena Jardim.
Efeito do tratamento
com melatonina
sobre a produção de
metástases neoplásicas.
SALUSVITA, Bauru, v.
34, n. 1, p. 71-86, 2015.

INTRODUÇÃO

Neoplasias caracterizam-se por terem proliferação celular autônoma, como consequência a diferenciação é perdida ou reduzida e suas células tornam-se anormais. (KARBOWNIK; LEWINSKI; REITER, 2001). A capacidade dessas células tumorais se deslocarem para a corrente sanguínea, aderirem a outro tecido ou vaso linfático e originar novas células é conhecida como metástases. (ARCANGELI *et al.*, 2012; SHEVDE; WELCH, 2003). Entretanto há uma série de fatores para a realização desse processo, com a necessidade de modificação do microambiente. (BRAND *et al.*, 2010). As células estão ligadas através das moléculas de adesão permitindo assim sua estabilidade, porém têm a capacidade de alterar esse sistema. (CANGARA *et al.*, 2010). Como no sistema caderina – catenina onde a E-caderina, glicoproteína transmembrana, com a função de aderir à célula dependente de cálcio se liga a actina por meio da catenina perdendo sua estrutura facilitando assim a motilidade das células tumorais. (PASCHOS; CANOVAS; BIRD, 2009). Selectinas, moléculas ligadas a carboidrato, também são encontradas em células epiteliais como células de adesão contribuindo potencialmente na invasão de metástases. (WANG; YAN, 2013).

Considerando ainda a modificação do microambiente, as metaloproteinases (MMPs), dependentes de cálcio e zinco, são responsáveis pela degradação da matriz extracelular (ECM) realizando a migração das células endoteliais através da membrana basal. A expressão da MMP-8 pode afetar o surgimento do fenótipo metastático, facilitar a invasão das células tumorais em outros tecidos. Os altos níveis de expressão de MMP, principalmente MMP-2 e MMP-9, estão relacionados portanto à invasão do tumor em vasos sanguíneos e linfáticos e sua metástase. (MOROZ *et al.*, 2013; AGARWAL *et al.*, 2003; HAO *et al.*, 2007). A MMP-11 expressa no fibroblasto também contribui para o avanço dessas lesões. (CHENG *et al.*, 2010). As MMP-9 diminuíram suas atividades a níveis quase controlados por consequência da ação do hormônio melatonina. (MISHRA; PAUL; SWARNAKAR, 2011; JANG *et al.*, 2012).

Em 1940 foi descoberto o hormônio secretado pela glândula pineal, melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina), mas no início não deram muita importância por se desconhecer exatamente suas funções. (HARDELAND *et al.*, 2011). Sua síntese exige que o L-triptofano saia dos vasos cerebrais e seja convertido em serotonina esta por sua vez é metabolizada fazendo com que a serotonina-N-acetiltransfere-se se transforme em N-acetil-5-hidroxitriptamina na qual forma-se a

melatonina pelo hidróxido indol-O-metiltransferase. (EKMEKCIO-GLU, 2006; PANDI-PERUMAL *et al.*, 2008). É caracterizada por apresentar dois receptores de membrana (MT1 e MT2). (CARDINALI; PÉVET, 1998), lipídios em sua composição, solubilidade à água facilitando sua entrada na célula pela membrana plasmática. (CLAUSTRAT; BRUN; CHAZOT, 2005).

A ação da melatonina “in vivo” previne a proliferação de células tumorais em glândulas mamárias, células pancreáticas e outros tipos. (COLLINS *et al.*, 2003; COS *et al.*, 2006; DOPFEL; SCHULMEISTER; SCHERNHAMMER, 2007; XU *et al.*, 2013). Ela atua como um controle para células neoplásicas, verificou-se que o hormônio influencia na apoptose e necrose da célula tumoral pela modulação da expressão Bax e Bcl-2.

Segundo Perissin *et al.* (1989, p. 132) “há participação da melatonina na regulação do processo de formação de metástases com um papel de proteção do hormônio.” Portanto o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da melatonina sobre o crescimento do TE assim como sua disseminação metastática para o linfonodo poplíteo.

MATERIAL E MÉTODOS

MODELO ANIMAL EXPERIMENTAL

Foram utilizados quatorze camundongos da linhagem suíça, machos, com idade entre 30 e 45 dias, procedentes do Biotério da Universidade do Sagrado Coração – USC. No decorrer dos experimentos os camundongos foram mantidos em gaiolas de polipropileno, receberam água proveniente do sistema de distribuição de água da Universidade do Sagrado Coração – USC e ração comercial específica para camundongos.

NEOPLASIA

Foi utilizado o Tumor Ascítico de Ehrlich, mantido no Biotério da Universidade do Sagrado Coração – USC. As células neoplásicas foram mantidas “in vivo” por repiques semanais, através do implante de 10^7 células tumorais por via intraperitoneal. Na obtenção de inóculos para implante do tumor, o fluido ascítico foi retirado, por punção da cavidade peritoneal, e a suspensão foi ajustada para a concentração de 10^6 células tumorais/mL, sendo inoculado 0,1mL desta suspensão por animal via subcutânea no coxim plantar da pata

SANTOS, Daiana Moreli dos e CONSTANTINO, Dulce Helena Jardim. Efeito do tratamento com melatonina sobre a produção de metástases neoplásicas. *SALUSVITA*, Bauru, v. 34, n. 1, p. 71-86, 2015.

SANTOS, Daiana Moreli dos e CONSTANTINO, Dulce Helena Jardim. Efeito do tratamento com melatonina sobre a produção de metástases neoplásicas. *SALUSVITA*, Bauru, v. 34, n. 1, p. 71-86, 2015.

traseira direita sendo que o inóculo ficou na direção do membro inferior do animal.

TESTE DE VIABILIDADE CELULAR

Com o objetivo de se determinar a viabilidade celular a um volume de suspensão de células, foi acrescido um volume de Azul de Trypan na concentração de 2% (0,8mL da suspensão celular para 0,2mL de azul Trypan). Posteriormente, uma gota da suspensão foi colocada entre lâmina e lamínula, e procedemos a contagem percentual das células, consideramos vivas aquelas que excluíram o corante, e mortas as que incorporaram o corante Azul de Trypan. Neste protocolo foram empregadas somente as suspensões que apresentaram viabilidade superior a 95%.

TRATAMENTOS

Os animais foram distribuídos em dois grupos: um grupo controle contendo sete animais tratados com 0,1ml de solução fisiológica, via oral, 1x/dia e o grupo teste contendo sete animais tratados com 10mg/kg de melatonina, via oral, 1x/dia. A melatonina foi adquirida comercialmente na forma sólida e diluída em solução fisiológica para aplicação.

EUTANÁSIA

Decorridos dezessete dias de tratamento, os animais foram eutanasiados com dose letal de Ketamina (120mg/kg de peso animal) e Xylasina (20mg/kg de peso animal). Este protocolo foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA da Universidade do Sagrado Coração, protocolo nº 007/13.

REMOÇÃO E PESAGEM DA MASSA TUMORAL

Após a eutanásia as duas patas traseiras dos animais foram removidas e pesadas em balança de precisão. Foi considerado o peso da massa tumoral a diferença de peso entre as duas patas (inoculada ou não).

REMOÇÃO DO LINFONODO POPLÍTEO

Foi removido o linfonodo poplíteo da pata inoculada com tumor, fixado em formol a 10% e encaminhado para processamento e coloração pela HE no laboratório de histotécnica da Universidade do Sagrado Coração - USC.

ESTUDO MORFOMÉTRICO

Cortes histológicos corados pela HE foram fotomicrografados (fotomicroscópio Nikon, modelo Eclipse 801; com captura de imagem por uma câmera de alta resolução). As imagens capturadas foram analisadas através do software Image Pro-Plus, versão 5.1 (Media Cybernetics).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi empregado o teste de normalidade para verificar se as variáveis estavam normalmente distribuídas. Posteriormente, o teste de hipótese de Student no modo pareado e de médias independentes, no sentido de analisar comparativamente os valores médios do peso da massa tumoral e dimensões do linfonodo poplíteo. No estudo estatístico observamos um nível de significância $p < 0,05$.

RESULTADOS

Neste estudo, com o objetivo de investigar o efeito da melatonina sobre a produção de metástases linfáticas, camundongos suíços foram inoculados com TE no coxim plantar e distribuídos em dois grupos: um deles tratado com solução fisiológica e o outro com melatonina.

O primeiro parâmetro avaliado foi o peso da massa tumoral, um critério empregado em estudos científicos no sentido de constatar efeito sobre o crescimento tumoral. Constatamos que, em nosso modelo experimental, o grupo tratado com solução fisiológica o peso tumoral foi significativamente maior quando comparado ao grupo tratado com melatonina. Estes dados se encontram demonstrados na tabela 1 e nas figuras 1 e 2.

SANTOS, Daiana Moreli dos e CONSTANTINO, Dulce Helena Jardim. Efeito do tratamento com melatonina sobre a produção de metástases neoplásicas. *SALUSVITA*, Bauru, v. 34, n. 1, p. 71-86, 2015.

SANTOS, Daiana Moreli dos e CONSTANTINO, Dulce Helena Jardim. Efeito do tratamento com melatonina sobre a produção de metástases neoplásicas. *SALUSVITA*, Bauru, v. 34, n. 1, p. 71-86, 2015.

Tabela 1 - Efeito do tratamento com melatonina sobre o peso do tumor sólido de Ehrlich (TE)

GRUPOS ^a	PESO TUMORAL
Controle	0,62 ± 0,14 ^c
Teste	0,23 ± 0,14 *

Nota: a – grupo controle = animais tratados com solução fisiológica (0,1ml, VO, 1x/dia); grupo teste = animais tratados com melatonina (10mg/kg peso animal, VO, 1x/dia).

b - Resultados expressos em média ± desvio padrão.

c - N = 07 animais por grupo.

* - P = 0,01.

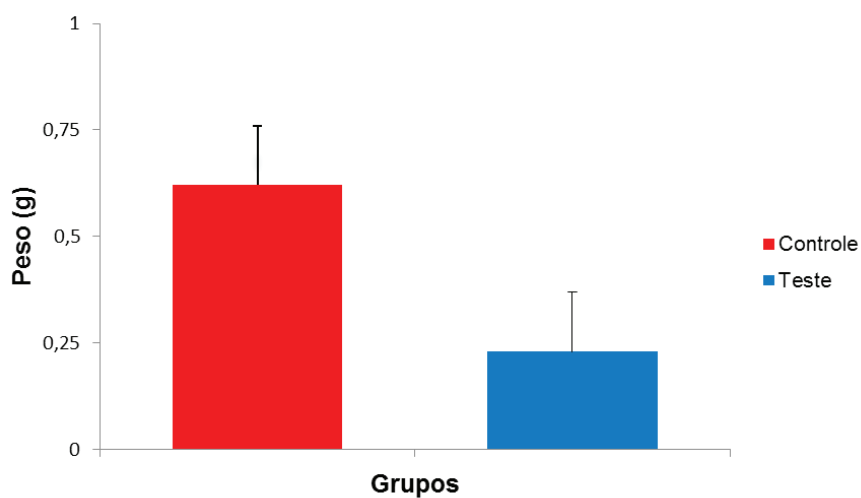


Figura 1 - Peso tumoral por grupo.



Figura 2 – À esquerda pata inoculada, grupo controle. À direita pata inoculada, grupo teste.

Após remoção do linfonodo poplíteo da pata inoculada, processamento de rotina para coloração H.E. e análise morfométrica dos mesmos. A mensuração da área dos linfonodos revelou que o tratamento com melatonina reduziu significativamente, fato associado a uma redução na proliferação metastática para este linfonodo e confirmado posteriormente pela análise microscópica destes linfonodos. Dados se encontrados apresentados na tabela 2 e figuras 3 e 4.

SANTOS, Daiana Moreli dos e CONSTANTINO, Dulce Helena Jardim. Efeito do tratamento com melatonina sobre a produção de metástases neoplásicas. *SALUSVITA*, Bauru, v. 34, n. 1, p. 71-86, 2015.

SANTOS, Daiana Moreli dos e CONSTANTINO, Dulce Helena Jardim. Efeito do tratamento com melatonina sobre a produção de metástases neoplásicas. *SALUSVITA*, Bauru, v. 34, n. 1, p. 71-86, 2015.

Tabela 2 - Efeito do tratamento com melatonina sobre a morfometria dos linfonodos

GRUPOS ^a	ÁREA DOS LINFONODOS
Controle	7,53 ± 2,09 ^{b,c}
Teste	4,37 ± 1,58*

Nota: a – grupo controle = animais tratados com solução fisiológica (0,1ml, VO, 1x/dia); grupo teste = animais tratados com melatonina (10mg/kg peso animal, VO, 1x/dia).

b - Resultados expressos em média ± desvio padrão.

c - N = 07 animais por grupo.

* - P = 0,05.

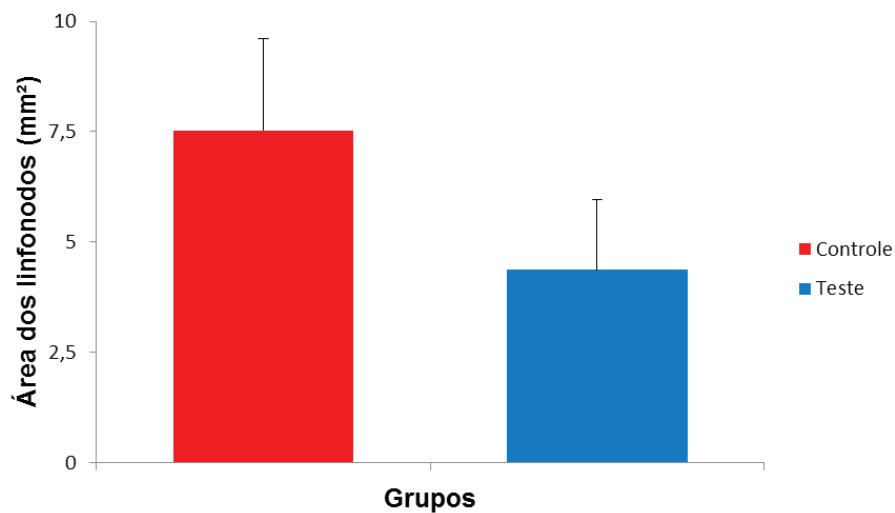
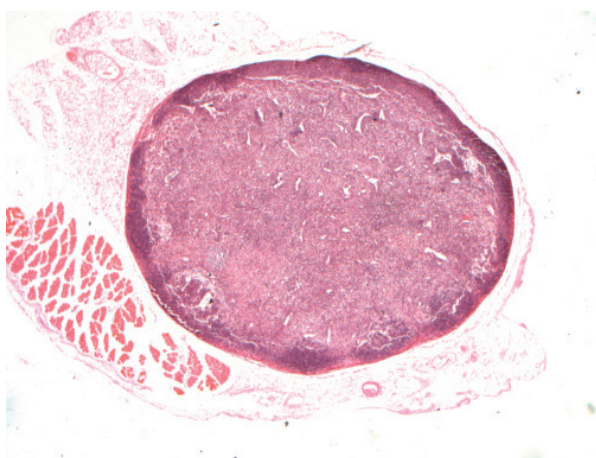


Figura 3 - Área dos linfonodos por grupo.



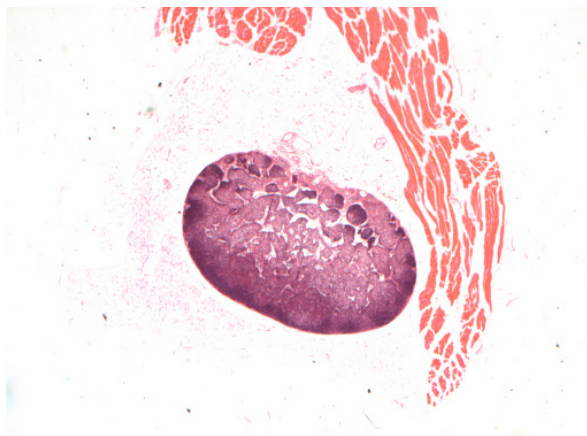


Figura 4 - À esquerda linfonodo poplíteo, grupo controle. À direita linfonodo poplíteo, grupo teste. Aumento: 2x.

Com o objetivo de investigar se a diferença na área dos linfonodos estava relacionada ao crescimento metastático, realizamos a análise morfométrica com auxílio de gradícula sobreposta às fotomicrografias em aumento total de 400x. Pudemos confirmar que o tratamento com melatonina realmente afetou o número de células tumorais presentes. Estes dados estão demonstrados na tabela 3 e figuras 5 e 6.

Tabela 3 - Efeito do tratamento com melatonina sobre células tumorais

GRUPOS ^a	CÉLULAS TUMORAIS
Controle	102,8 ± 39,23 ^{b,c}
Teste	62,8 ± 13,07*

Nota: a – grupo controle = animais tratados com solução fisiológica (0,1ml, VO, 1x/dia); grupo teste animais tratados com melatonina (10mg/kg peso animal, VO, 1x/dia).

b - Resultados expressos em média ± desvio padrão.

c - N = 07 animais por grupo.

* - P = 0,04.

SANTOS, Daiana Moreli dos e CONSTANTINO, Dulce Helena Jardim. Efeito do tratamento com melatonina sobre a produção de metástases neoplásicas. *SALUSVITA*, Bauru, v. 34, n. 1, p. 71-86, 2015.

SANTOS, Daiana Moreli dos e CONSTANTINO, Dulce Helena Jardim. Efeito do tratamento com melatonina sobre a produção de metástases neoplásicas. *SALUSVITA*, Bauru, v. 34, n. 1, p. 71-86, 2015.

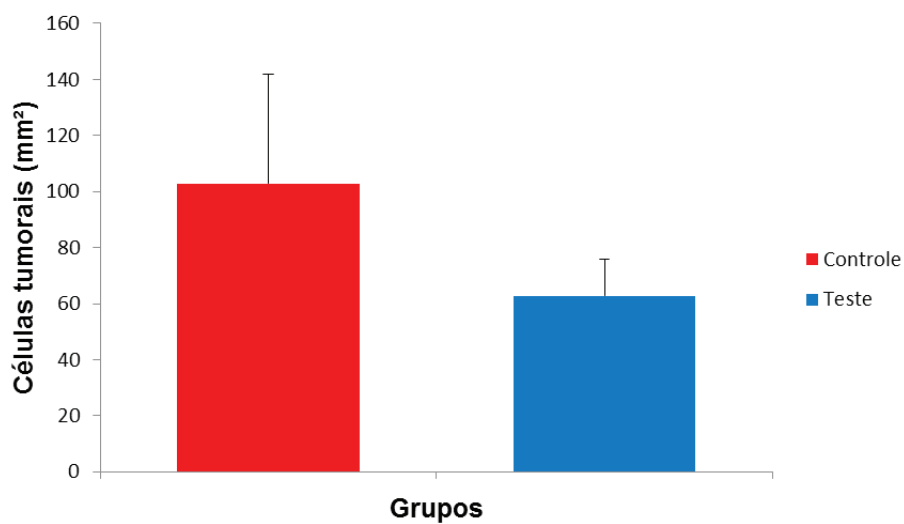


Figura 5 - Número de células tumorais por grupo.

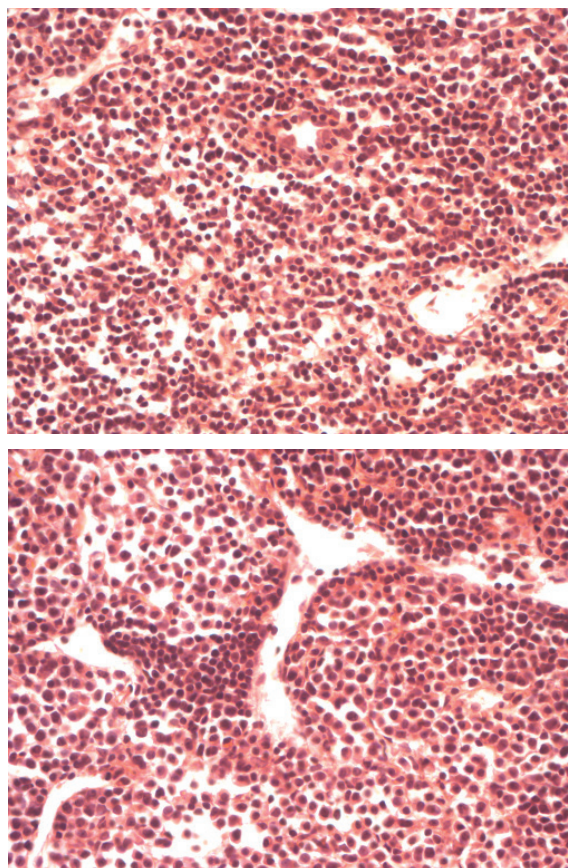


Figura 6 – À esquerda células tumorais (destaque), grupo controle. À direita células tumorais, grupo teste. Aumento: 40x

DISCUSSÃO

Há uma associação muito clara entre a evolução de uma neoplasia e os níveis séricos de estresse, sendo este a causa de diversos desequilíbrios no organismo e um aumento na suscetibilidade às doenças. O estresse é associado a uma elevação sérica dos níveis de cortisol e este interfere diretamente na resposta imunitária do portador. Nestes indivíduos, há um desequilíbrio entre os hormônios melatonina e cortisol, daí a necessidade de investigarmos se a elevação da melatonina circulante seria capaz de controlar a proliferação metastática do TE.

Estudos anteriores relatam que o uso da melatonina é capaz de retardar o desenvolvimento de neoplasias intracranianas como o glioblastoma, cujo diagnóstico confere ao portador um prognóstico ruim e uma curta taxa de sobrevida, mesmo com a remoção cirúrgica e concomitante radioterapia. Nestes pacientes, o tratamento com melatonina promoveu um aumento na taxa de sobrevida e considerável melhora na qualidade da mesma. (LISSONI *et al.*, 1996; MARTÍN *et al.*, 2010).

Em nosso modelo experimental, a administração da melatonina fez com que o crescimento tumoral reduzisse significativamente em relação ao grupo tratado com solução fisiológica. Tal afirmação é baseada na diferença de peso entre as patas traseiras do animal, inoculada ou não com TE. Em outros modelos é comum usar como método de investigação deste parâmetro a análise morfométrica da massa tumoral, porém a inoculação no coxim plantar do camundongo gera uma infiltração tumoral entre ossos e músculos da pata do animal, impossibilitando o isolamento e remoção tumoral completa.

Efeito fisiológico semelhante foi observado em pacientes com carcinoma da mama, onde se observou uma relação entre a redução na proliferação celular neoplásica e consequentemente do receptor de estrógeno positivo e um baixo nível de melatonina na urina noturna, sendo maior sua presença na circulação. (BLASK; WILSON; ZALATAN, 1997; SCHERNHAMMER *et al.*, 2010).

Buscamos correlacionar à produção de metástases linfáticas com a área dos linfonodos avaliada por morfometria. O TE é conhecido pelo fato de não produzir metástases hematogênicas, porém as metástases linfáticas são comuns. Tumores sólidos, incapazes de produzir metástases hematogênicas, podem produzir a neoformação de vasos linfáticos de modo semelhante à angiogênese. Há relato de que o fator de crescimento endotelial-vascular C e D (VEGF-C e D) seria produzido por tumores sólidos e se ligariam a receptores específicos em vasos linfáticos, sendo esta a rota principal para

SANTOS, Daiana Moreli dos e CONSTANTINO, Dulce Helena Jardim. Efeito do tratamento com melatonina sobre a produção de metástases neoplásicas. *SALUSVITA*, Bauru, v. 34, n. 1, p. 71-86, 2015.

SANTOS, Daiana Moreli dos e CONSTANTINO, Dulce Helena Jardim. Efeito do tratamento com melatonina sobre a produção de metástases neoplásicas. *SALUSVITA*, Bauru, v. 34, n. 1, p. 71-86, 2015.

proliferação metastática. (NATHANSON, 2003). Em nosso modelo constatamos que a proliferação metastática associada à área dos linfonodos também reduziu significativamente no grupo tratado com melatonina, sugerindo uma reversão na capacidade do TE em produzir novos vasos linfáticos.

Portanto, há associações entre a melatonina e o controle da progressão neoplásica, sendo a primeira antiproliferativa e, até o momento não há razões desfavoráveis para o seu uso. (JUNG; AHMAD, 2006; MARTÍN *et al.*, 2006).

Além dos fatos descritos anteriormente, constatamos diferença relacionada ao número de células tumorais no linfonodo, justificando o menor crescimento metastático. Estudos anteriores demonstram que a melatonina tem como função também modular a produção e função das células hematopoiéticas, afetando diretamente a produção e função de células envolvidas na resposta de defesa antitumor, como por exemplo, os linfócitos natural killer (NK) com múltiplos papéis sendo um deles, realizar a lise de células tumorais. (JUNG; AHMAD, 2006). Portanto, o modelo empregado neste estudo comprova o fato de que o tratamento com melatonina reduz não só o crescimento tumoral mas também a proliferação linfática do TE. Estudos adicionais são necessários para esclarecer porque este tratamento consegue reduzir, mas não abolir o crescimento tumoral, assim como a necessidade de esclarecer quais as citocinas envolvidas neste mecanismo de controle. Apesar da necessidade de mais evidências científicas, a melatonina apresentou um efeito benéfico sobre a redução do crescimento neoplásico e a produção de metástases linfáticas, um dos maiores desafios no tratamento de neoplasias e que merece especial atenção por parte da comunidade científica.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem concluir que o tratamento com o hormônio melatonina resultou em redução significativa no crescimento do TE, associado a uma redução na área dos linfonodos poplíteos e que esta última foi associada a uma diminuição no número de células tumorais presentes nos linfonodos. Porém são necessárias novas pesquisas para identificar quais mecanismos estão envolvidos nesse processo e o fato de que este hormônio não conseguiu abolir o tumor e sim uma contenção no seu crescimento.

AGRADECIMENTOS

À Universidade do Sagrado Coração – USC, ao Biotério, ao laboratório de Patologia Ambiental e Experimental, ao laboratório de Biologia e ao laboratório de Citogenética e Biologia Molecular, todos estes inseridos na USC.

REFERÊNCIAS

AGARWAL, D. et al. Expression of matrix metalloproteinase 8 (MMP-8) and tyrosinase-related protein-1 (TYRP-1) correlates with the absence of metastasis in an isogenic human breast cancer model. **Differentiation**, London, v. 71, n. 2, p. 114-125, mar. 2003.

ARCANGELI, M. et al. The Junctional Adhesion Molecule-B regulates JAM-C-dependent melanoma cell metastasis. **Febs Letters**, Amsterdam, v. 586, n. 22, p. 4046-4051, nov. 2012.

BLASK, D. E.; WILSON, S. T.; ZALATAN, F. Physiological Melatonin Inhibition of Human Breast Cancer Cell Growth *in Vitro*: Evidence for a Glutathione-mediated Pathway. **Cancer Research**, Baltimore, v. 57, n. 10, p. 1909-1914, mai. 1997.

BRAND, M. V. et al. Activated leukocyte cell adhesion molecule expression predicts lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma. **Oral Oncology**, London, v. 46, n. 5, p. 393-398, mar. 2010.

CANGARA, H. M. et al. Role of endothelial cell-selective adhesion molecule in hematogeneous metastasis. **Microvascular Research**, New York, v. 80, n. 1, p. 133-141, jul. 2010.

CARDINALI, D. P.; PÉVET, P. Basic aspects of melatonin action. **Sleep Medicine Reviews**, London, v. 2, n. 3, p.175-190, 1998.

CHENG, C. et al. The clinical implications of MMP-11 and CK-20 expression in human breast cancer. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 411, n. 3-4, p. 234-241, fev. 2010.

CLAUSTRAT, B.; BRUN, J.; CHAZOT G. The basic physiology and pathophysiology of melatonin. **Sleep Medicine Reviews**, Inglaterra, v. 9, n. 1, p. 11-14, fev. 2005.

COLLINS, A. et al. Overexpression of the MT1 melatonin receptor in MCF-7 human breast cancer cells inhibits mammary tumor formation in nude mice. **Cancer Letters**, Limerick, v. 189, n. 1, p. 49-57, jan. 2003.

SANTOS, Daiana Moreli dos e CONSTANTINO, Dulce Helena Jardim. Efeito do tratamento com melatonina sobre a produção de metástases neoplásicas. **SALUSVITA**, Bauru, v. 34, n. 1, p. 71-86, 2015.

SANTOS, Daiana Moreli dos e CONSTANTINO, Dulce Helena Jardim. Efeito do tratamento com melatonina sobre a produção de metástases neoplásicas. *SALUSVITA*, Bauru, v. 34, n. 1, p. 71-86, 2015.

COS, S. et al. Estrogen-signaling pathway: A link between breast cancer and melatonin oncostatic actions. **Cancer Detection and Prevention**, London, v. 30, n. 2, p. 118-128, 2006.

DOPFEL, R. P.; SCHULMEISTER, K.; SCHERNHAMMER, E. S. Nutritional and lifestyle correlates of the cancer-protective hormone melatonin. **Cancer Detection and Prevention**, London, v. 31, n. 2, p. 140-148, 2007.

EKMEKCIOGLU, C. Melatonin receptors in humans: biological role and clinical relevance. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, Paris, v. 60, n. 3, p. 97-108, abr. 2006.

HAO, L. et al. Recombination of CXCR4, VEGF, and MMP-9 predicting lymph node metastasis in human breast cancer. **Cancer Letters**, Limerich, v. 253, n. 1, p. 34-42, ago. 2007.

HARDELAND, R. et al. Melatonin—A pleiotropic, orchestrating regulator molecule. **Progress in Neurobiology**, London, v. 93, n. 3, p. 350-384, mar. 2011.

JANG, J. et al. Melatonin reduced the elevated matrix metalloproteinase-9 level in a rat photothrombotic stroke model. **Journal of the Neurological Sciences**, Amsterdam, v. 323, n. 1-2, p. 221-227, dez. 2012.

JUNG, B.; AHMAD, N. Melatonin in Cancer Management: Progress and Promise. **Cancer Research**, Baltimore, v. 66, n. 20, p. 9789-9793, out. 2006.

KARBOWNIK, M.; LEWINSKI, A.; REITER, R. J. Anticarcinogenic actions of melatonin which involve antioxidative processes: comparison with other antioxidants. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, Amsterdam, v. 33, n. 8, p. 735-753, ago. 2001.

LISSONI, P. et al. A phase II study of tamoxifen plus melatonin in metastatic solid tumour patients. **British Journal of Cancer**, London, v. 74, p. 1466-1468, nov. 1996.

MARTÍN, V. et al. Intracellular Signaling Pathways Involved in the Cell Growth Inhibition of Glioma Cells by Melatonin. **Cancer Research**, London, v. 66, n. 2, p. 1081-1088, jan. 2006.

MARTÍN, V. et al. Melatonin sensitizes human malignant glioma cells against TRAIL-induced cell death. **Cancer Letters**, Limerich, v. 287, n. 2, p. 216-223, jan. 2010.

MISHRA, A.; PAUL, S.; SWARNAKAR, S. Downregulation of matrix metalloproteinase-9 by melatonin during prevention of alcohol-

-induced liver injury in mice. **Biochimie**, Paris, v. 93, n. 5, p. 854-866, mai. 2011.

MOROZ, A. et al. Fibronectin induces MMP2 expression in human prostate cancer cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, San Diego, v. 430, n. 4, p. 1319-1321, jan. 2013.

NATHANSON, D. S. Insights into the Mechanisms of Lymph Node Metastasis. **Cancer**, Hoboken, v. 98, n. 2, p. 413-423, jul 2003.

PANDI-PERUMAL, S. R. et al. Physiological effects of melatonin: Role of melatonin receptors and signal transduction pathways. **Progress in Neurobiology**, London, v. 85, n 3, p. 335-353, jul. 2008.

PASCHOS, K. A.; CANOVAS, D.; BIRD, N. C. The role of cell adhesion molecules in the progression of colorectal cancer and the development of liver metastasis. **Cellular Signalling**, Oxford, v. 21, n. 2, p. 665-674, mai. 2009.

PERISSIN, L. et al. Effects of different light cycles and stress on urinary excretion of melatonin and tumor spread in mice bearing lewis lung carcinoma. **Pharmacological Research**, Hoboken, v. 21, n. 1, p. 131-132, jan.-fev. 1989.

SCHERNHAMMER, E. S. et al. Urinary 6-Sulphatoxymelatonin Levels and Risk of Breast Cancer in Premenopausal Women: The ORDET Cohort. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, Philadelphia, v. 19, n. 3, p. 729-737, mar. 2010.

SHEVED, L. A.; WELCH, D. R. Metastasis suppressor pathways—an evolving paradigm. **Cancer Letters**, Limerick, v. 198, n. 1, p. 1-20, jul. 2003.

WANG, Z.; YAN, X. CD146, a multi-functional molecule beyond adhesion. **Cancer Letters**, Limerick, v. 330, n. 2, p. 150-162, abr. 2013.

XU, C. et al. Melatonin is involved in the apoptosis and necrosis of pancreatic cancer cell line SW-1990 via modulating of Bcl-2/Bax balance. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, Paris, v. 67, n. 2, p. 133-139, mar. 2013.

SANTOS, Daiana Moreli dos, CONSTANTINO, Dulce Helena Jardim. Efeito do tratamento com melatonina sobre a produção de metástases neoplásicas. *SALUSVITA*, Bauru, v. 34, n. 1, p. 71-86, 2015.