

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS



Caroline Luísa Quiles

O Papel da Melatonina Endógena e Exógena em Células
Derivadas de Tumores Uroteliais.
Relevância dos Receptores MT1 e MT2.

The Role of Endogenous and Exogenous Melatonin in
Cells Derived from Urothelial Tumors.
Relevance of MT1 and MT2 Receptors.

São Paulo

2022

Caroline Luísa Quiles

O Papel da Melatonina Endógena e Exógena em Células
Derivadas de Tumores Uroteliais.
Relevância dos Receptores MT1 e MT2.

The Role of Endogenous and Exogenous Melatonin in
Cells Derived from Urothelial Tumors.
Relevance of MT1 and MT2 Receptors.

Tese apresentada ao Instituto de
Biotecnologia da Universidade de São
Paulo, para a obtenção de Título de
Doutor em Ciências, na Área de
Fisiologia Geral.

Orientadora:
Prof^a Dr^a Regina Pekelmann Markus

São Paulo

2022

Ficha Catalográfica

Luísa Quiles, Caroline

O Papel da Melatonina Endógena e Exógena em Células Derivadas de Tumores Uroteliais. : Relevância dos Receptores MT1 e MT2. / Caroline Luísa Quiles ; orientadora Regina Pekelmann Markus -- São Paulo, 2022.

100 p.

Tese (Doutorado) -- Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia.

1. Carcinoma Urotelial . 2. Câncer de Bexiga. 3. Receptores de Melatonina. 4. Melatonina Extra-Pinea. I. Pekelmann Markus, Regina, orient. II. Título.

Comissão Julgadora:

Prof(a).Dr(a).

Prof(a).Dr(a).

Prof(a).Dr(a).

Prof(a).Dr(a).

Prof^a.Dr^a. Regina Pekelmann Markus

Orientadora

*À minha família e todos aqueles
que fizeram parte dessa jornada.*

AGRADECIMENTOS

À minha família: Agradeço meus pais e irmão por serem o cerne de minha formação e desenvolvimento até os dias de hoje. Desde o suporte financeiro e emocional até as discussões sobre bases biológicas do comportamento com minha mãe Vânia e os muitos trabalhos manuais, casas ecológicas e pesquisas sobre a cultura japonesa com meu pai David. Agradeço imensamente ao meu marido, Marcos, por me acompanhar a cada passo ao longo de minha caminhada acadêmica, tornar meus dias mais leves e possíveis, além de me ajudar a acreditar em eu mesma diariamente. Palavras não são suficientes para o quanto agradeço minhas avós e avôs, tias e tios, primas e primos por suas constantes torcidas e incentivo.

Aos meus mentores: Agradeço profundamente à minha orientadora, Prof^a Regina Markus, por compartilhar seu amor e entusiasmo pela ciência, por colocar um pedaço de sua alma em cada trabalho em cada aluno que ajuda a construir. Serei sempre grata ao tempo compartilhado e aos ensinamentos sobre ciência e sobre a vida. Agradeço à Prof^a Zulma Ferreira por sua imensa paciência e colaboração com a construção do pensamento crítico científico, além de seu acolhimento pessoal diário. E agradeço ao Prof. Pedro Fernandes, pelas profundas discussões científicas e pensamento holístico que colaboraram imensamente com esse trabalho, além de meu desenvolvimento acadêmico.

Aos meus colegas e amigos: Agradeço à todos aqueles que compartilharam dessa jornada. Aos meus colegas Isabela Trevisan e Everton Sousa e à querida técnica Débora Moura, que me deram suporte desde os primeiros passos dentro do laboratório. Agradeço à Marlina Córdoba-Moreno e Kassiano Souza, colaboradores, colegas de laboratório e amigos, que se converteram em parte da minha família de SP. E agradeço à outra parte da minha família construída através do IB e da cidade de São Paulo: José Neto, Daniela Dantas, Mariana Trivilin e Carol Serna. Sou extremamente grata à todos por terem sido uma rede de apoio gentil e fundamental ao longo desta etapa.

Aos fomentadores: Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (processos n° 2013/13691-1 e n° 2017/10291-3); ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (processo n° 480097/2013-5 e n° 140274/2018-9); e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES (cod 001). Agradeço à todos por tornar esse projeto e a pesquisa científica brasileira possível.

LISTA DE ABREVEATURAS

13-HODE	ácido 13-hidroioctadecadienóico
5-HT	serotonina
6-OH-MEL	6-hidroxi melatonina
AFMK	N1-acetil-N2-formil-5-metoxiquinuramina
AKT-MMP-9	proteína quinase B/ metaloproteinase 9 da matriz
AMK	N1-acetil-5-metoxiquinuramina
AMPc	monofosfato cíclico de adenosina
aMT6s	6-sulfatoxi melatonina
ASMT	acetilserotonina O-metiltransferase
ATP	adenosina trifosfatada
BCRJ	Banco de Células do Rio de Janeiro
BDS	<i>bright detail similarity</i>
bp	pares de bases
BSA	albumina bovina sérica
CCT	carcinoma de células transicionais
cDNA	DNA codificante
CFSE-DA	diacetato de 5-(6-) carboxifluoresceína succinimidil ester
CIS	carcinoma <i>in situ</i>
CNPC	carcinoma de pulmão de células não pequenas
CREs	elementos responsivos ao AMPc
Ct	cycle threshold
CREB	proteína de ligação ao elemento responsivo ao AMPc
CYP1A1	citocromo P450, família 1, subfamília A, polipeptídio 1
CYP1A2	citocromo P450, família 1, subfamília A, polipeptídio 2
CYP1B1	citocromo P450, família 1, subfamília B, polipeptídio 1
DAMPs	padrões moleculares associados a perigo
DMSO	dimetilsulfoxido
DNA	ácido desoxirribonucleico
FBS	soro fetal bovino
FITC	isotiocianato de fluoresceína
GABA	ácido gama-aminobutírico

GAPDH	gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase
GMPc	guanosina monofosfato cíclico
GPCRs	receptores acoplados à proteína G
GPR50	receptor órfão acoplado à proteína G 50
IARC	Agencia Internacional de Pesquisa sobre o Câncer
iNOS	óxido nítrico-sintase induzida
ipRGC	células ganglionares intrinsecamente fotossensíveis
MEL	melatonina
MFI	mediana de intensidade de fluorescência
MT1	receptor de melatonina tipo 1
MT2	receptor de melatonina tipo 2
MT3/QR2	receptor de melatonina tipo 3/ quinona redutase 2
MIBC	câncer de bexiga músculo-invasivo
MMPs	metaloproteinases
NAS	N-acetilserotonina
NCF-1	fator citosólico 1 de neutrófilos
NF-κB	fator nuclear kappa B
NMIBC	câncer de bexiga não músculo-invasivo
NSC	núcleo supraquiasmático
PAF	paraformaldeído
PAMPs	padrões moleculares associados a patógenos
PBS	tampão fosfato salino
PCR	reação em cadeia da polimerase
PG	glândula pineal
PKA	proteína quinase A
PLC	fosfolipase C
PSNAT	serotonina-N-acetiltransferase fosforilada
PVN	núcleo paraventricular hipotalâmico
qPCR	reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real
RHT	trato retino-hipotalâmico
RNA	ácido ribonucleico
RNA_m	RNA mensageiro
ROCK-1	proteína quinase associada a Rho
ROR	receptor órfão relacionado ao RAR

ROS	espécies reativas de oxigênio
RRE	elemento responsivo de ROR
RT-PCR	reação em cadeia da polimerase – transcriptase reversa
RZR/RORa	receptores de homônio nuclear órfão relacionado a retinoides
SCG	núcleos cervicais ganglionares
SCN	núcleos supraquiasmáticos
SM	<i>similarity morphology</i>
SNAT	serotonina N-acetiltransferase
STED	<i>stimulated emission depletion microscopy</i>
TAD	domínio de transativação

“One day we'll remember the hardest of times

When distance meant love and it kept us alive

Andrà Tutto bene

Vai ficar tudo bem

Everything will be alright”

Cristóvam - Andrà Tutto Bene

RESUMO

O carcinoma urotelial está entre as dez neoplasias malignas mais comuns. Estudos *in silico* sugeriram que a melatonina sintetizada por tumores de bexiga podem ter efeitos protetores; no entanto, os ensaios clínicos não confirmaram tais benefícios. Neste trabalho, avaliamos o efeito da melatonina exógena e do sistema melatonérgico (enzimas, produção de melatonina e receptores) em três linhagens celulares: RT4, 5637 e T24. A produção local de melatonina foi observada em escala pM em todas as linhagens celulares, e a expressão diferencial das enzimas envolvidas em sua síntese e metabolismo foi insuficiente para explicar o perfil de resposta das linhagens celulares. A melatonina exógena (mM) diminuiu a viabilidade de todas as linhagens de estudo. Ao mesmo tempo, a faixa pM-nM não modificou o padrão proliferativo das linhagens celulares, mas apresentou uma resposta linhagem-específica na viabilidade celular: RT4 não respondeu ao tratamento com melatonina, 5637 aumentou, e T24 teve um efeito dual dose-dependente da viabilidade. Por outro lado, a expressão dos receptores de melatonina acoplados à proteína G, MT1 e MT2, e do receptor órfão GPR50, no qual dimeriza com MT1 reduzindo sua afinidade à melatonina, abre uma nova abordagem investigativa. A baixa expressão de receptores de melatonina em RT4 justificou a falta de sensibilidade à melatonina exógena em pM-nM. As diferenças entre 5637 e T24 também podem depender da expressão e localização do receptor específico. Os dados sugerem que em 5637 e T24, MT1 induz um aumento na viabilidade celular, enquanto em T24 os receptores de membrana MT2 diminuem a viabilidade celular. Em resumo, aqui mostramos pela primeira vez a relevância dos subtipos de receptores de melatonina na promoção do ajuste fino da viabilidade celular no câncer de bexiga. O presente estudo sugere fortemente que o uso terapêutico da melatonina ou análogos no câncer de bexiga ainda é prematuro, sendo necessário adequar o tratamento considerando a expressão dos subtipos de receptores de melatonina para cada paciente.

Palavras-chave: Carcinoma Urotelial. Câncer de Bexiga. Receptores de Melatonina. Melatonina Extra-Pineal.

ABSTRACT

Urothelial carcinoma is among the ten most common malignmalignantasia. *In silico* studies suggested that melatonin synthesized by bladder tumors may have protective effects; however, clinical trials did not confirm the beneficial effects. In this work, we evaluate the effect of exogenous melatonin and the melatonergic system (enzymes, melatonin production and receptors) in three cell lineages: RT4, 5637 and T24. Melatonin local production was observed on a pM scale in all cell lines, and the differential expression of the enzymes involved in its synthesis and metabolism was insufficient to explain the cell lines' profile response. Exogenous melatonin at the (mM) decreased viability of all study cell lines. At the same time, the pM-nM range did not modify the proliferative pattern of cell lines, but presented a cell line-specific response in viability: RT4 did not respond to melatonin treatment, increased 5637, and had a dose-dependent dual effect of T24 viability. Otherwise, the expression of G-protein coupled melatonin receptors, MT1 and MT2, and the orphan receptor GPR50, which dimerizes with MT1 reducing its affinity to melatonin, opens a new investigative approach. The lower expression of melatonin receptors in RT4 justified the lack of sensitivity to pM-nM exogenous melatonin. The differences between 5637 and T24 could also rely on specific receptor expression and localization. The data suggest that in 5637 and T24, MT1 induces an increase in cell viability, while in T24 MT2 membrane receptors decrease cell viability. In summary, here we show for the first time the relevance of melatonin receptor subtypes in promoting fine-tuning of cell viability in bladder cancer. The present study strongly suggests that the therapeutic use of melatonin or analogs in bladder cancer is still premature, and being necessary to adapt the treatment considering the expression of melatonin receptor subtypes for each patient.

Keywords: Urothelial Carcinoma. Bladder Cancer. Melatonin receptors. Extra Pineal Melatonin.

PREFÁCIO

Tempo, tempo, tempo...

O tempo da forma como conhecemos (segundos, minutos, dias...) foi uma maneira de quantificarmos e darmos significado ao contínuo de nossas existências, porém nosso organismo como ser vivo que interage com um meio, como interpreta o tempo? Seria o tempo de nossas células o mesmo de nossos relógios? Uma coisa é certa, a melatonina, uma molécula conservada desde as arqueas e cianobactérias até os mamíferos mais complexos está envolvida nesta equação, e por muitos anos a ciência destacou sua relevância na contabilização do tempo endógeno como sincronizadora de nosso relógio biológico com o tempo de giro da Terra ao redor do Sol. A melatonina nos deu pistas desde muito antes da invenção de fontes artificiais de iluminação de quando era dia ou noite lá fora, de quando nosso organismo deveria se ativar ou repousar, gastar ou consumir.

O que ocorre quando nosso corpo responde a estímulos nocivos? Será que ao sair da zona de hígidez nosso organismo lida de forma diferente com as referências temporais? Quando uma infecção aguda nos acomete e a prioridade se torna voltar ao equilíbrio homeostático o quanto antes, como a melatonina se comporta? Pois bem, já descobrimos que nesses casos a melatonina assume um papel de marcador de estado imunológico, através da sua ausência nos momentos em que deveria ser sintetizada. Essencialmente, há uma alteração na forma de o corpo entender o tempo. A falta de produção noturna de melatonina sinaliza que algo está errado. O sistema melatonérgico mais uma vez contribui para a manutenção da vida, facilitando as repostas de defesa.

Por último, mas não menos importante, quando nosso corpo é acometido por um câncer, por uma lesão que não é externa, mas sim um crescimento exacerbado de um tecido além do basal considerado normal, como a melatonina e tempo se relacionam? Pois bem, o presente estudo traz algumas pistas a mais sobre essa história, de como a melatonina pode ser uma peça importante não somente no contexto temporal cíclico de claro e escuro, mas no contexto de favorecer ou não o crescimento de células tumorais de modo que elas próprias estarão produzindo melatonina e sendo reguladas por sua síntese e recepção. Sendo assim, o objetivo dessa tese não se trata de defender a melatonina como adjuvante da cura do câncer, se trata de defender a importância da adequada compreensão da atuação dessa molécula de acordo com a localização, concentração, afinal, de acordo com o contexto na qual está atuando.

Caroline Quilis
07/2022

Introdução

“Você fará melhor se fizer com que outros queiram aprender.”

Katherine Johnson

INTRODUÇÃO

Melatonina e o Sistema Melatonérgico

Descrita pela primeira vez por Lerner *et al.*, (1958), a melatonina foi identificada em meio à procura de moléculas presentes na glândula pineal bovina capazes de clarear a pele de anfíbios. Esse trabalho levou ao seu isolamento e caracterização como um eficiente fator indutor de agregação de grânulos de melanina em melanócitos de rã (LERNER *et al.*, 1958). Pouco depois, a estrutura química da melatonina foi revelada como N-acetil-5-metoxitriptamina (LERNER *et al.*, 1959). Sua produção já foi descrita desde organismos unicelulares primitivos até os vertebrados mais complexos, sendo uma indolamina com propriedades anfílicas, o que permite sua ampla difusão pelas barreiras morfofisiológicas (como membranas celulares e barreira hematoencefálica) (SHIDA *et al.*, 1994; TAN *et al.*, 2010). Por se tratar de uma potente doadora de elétrons, sua provável função inicial foi a de reduzir a carga de radicais livres, gerada durante os processos de fotossíntese e metabolismo energético (TAN *et al.*, 2013). No entanto, ao longo do processo evolutivo, essa indolamina passou por um alargamento de seu repertório funcional devido ao aparecimento de sítios/receptores de ligação específicos e vias de transdução de sinais associadas, tornando-se assim uma molécula pleiotrópica, embora sua estrutura química tenha se mantido inalterada.

A melatonina se originou em laboratórios dermatológicos e se tornou uma molécula chave no campo da cronobiologia. Em mamíferos, a melatonina é um hormônio produzido pela glândula pineal de maneira rítmica durante a fase de escuro, responsável por sincronizar os processos biológicos individuais com o tempo de giro da Terra ao redor do seu próprio eixo e ao redor do eixo do Sol (REITER, 1991). Essa capacidade sincronizadora se dá por sua síntese não apresentar mecanismos de retroalimentação negativa, de modo que o tempo de duração da síntese de melatonina permite a diferenciação de noites mais longas ou curtas, logo, a diferenciação de noites de inverno ou de verão (MENAKER *et al.*, 1997; ERREN & REITER, 2015). Dentre os processos biológicos sincronizados pela melatonina estão os ritmos atividade/repouso, temperatura corporal, frequência cardíaca, metabolismo energético, ciclo estral, dentre muitos outros (NELSON *et al.*, 2022). Devido a tais funções, a glândula pineal já foi conhecida como “terceiro olho” e, a melatonina ainda hoje é referenciada como “hormônio do escuro” (REITER, 1991). Além do aumento e bloqueio da síntese de melatonina pela pineal

marcarem o ritmo claro/escuro e o ciclo sazonal, ela também é capaz de marcar o ciclo de vida dos mamíferos, tendo seus picos e vales mais acentuados (amplitude) na infância/adolescência e gradativamente reduzindo essa diferença ao longo dos anos, de modo que em indivíduos idosos sua síntese noturna é mitigada (KARASEK, 2004). Um resumo da síntese de melatonina pela glândula pineal está representado na **Figura 1** e descrito de forma sucinta abaixo.

Na maioria das espécies de mamíferos, uma via polissináptica que une os núcleos supraquiasmáticos hipotalâmicos (SCN), que abrigam o relógio circadiano mestre em mamíferos, regula a síntese de melatonina na glândula pineal. Os SCN recebem informação fóptica ambiental a partir de uma via retino-hipotalâmica direta. Parte das fibras do trato retino-hipotalâmico apenas cruzam o SCN, enquanto uma fração originada da chamada parte cega da retina faz sinapse no SCN (MOORE & EICHLER, 1972; STEPHAN & ZUCKER, 1972). A partir do SCN, a via polissináptica projeta-se sobre os núcleos paraventriculares, e via a coluna torácica intermediolateral da medula espinhal projeta-se para o gânglio cervical superior de onde partem fibras pós-ganglionares simpáticas que inervam a glândula pineal (MOORE, 1995; LARSEN *et al.*, 1998; TECLEMARIAM-MESBAH *et al.*, 1999). Este processo de transformar informação fóptica em neuroendócrina vem sendo conhecido como sistema fotoneuroendócrino. A inervação simpática circadiana da glândula pineal, impulsionada pelo SCN, resulta na ativação da enzima serotonina-N-acetiltransferase (SNAT; E.C. 2.3.1.87), uma enzima chave na via de síntese da melatonina (KLEIN *et al.*, 2002). A noradrenalina liberada pelos neurônios simpáticos estimula a atividade da SNAT em pinealócitos por meio de receptores adrenérgicos β_1 (DEGUCHI & AXELROD, 1972; KLEIN & WELLER 1973; KLEIN *et al.*, 1985; VANECEK *et al.*, 1986). A ativação de receptores adrenérgicos α pode resultar na potenciação ou inibição da transcrição do gene que codifica SNAT na dependência do padrão de ativação do sistema nervoso simpático (FERNANDES *et al.*, 2017). Posteriormente, ocorre a metilação da N-acetilserotonina (NAS) catalisada pela enzima acetilserotonina O-metiltransferase (ASMT, E.C. 2.1.1.4) que resulta na síntese da melatonina (MEL, N-acetil-5-metoxitriptamina) (WURTMAN *et al.*, 1965; SIMONNEAUX & RIBELAYGA, 2003). Em humanos, assim como em roedores, a liberação noturna de noradrenalina promove a fosforilação de SNAT via fosforilação e ativação da proteína quinase A (PKA) pelo monofosfato cíclico de adenosina (AMPC) induzido pela ativação de receptores adrenérgicos (ACKERMANN & STEHLE, 2006). A proteína chaperona 14-3-3 liga-se à P-SNAT, protegendo-a contra a degradação por

proteassomas e induzindo alterações alostéricas que resultam no aumento da atividade enzimática e, conseqüentemente, no aumento da produção de melatonina (KLEIN *et al.*, 2002). Em animais diurnos, este é o principal mecanismo celular conhecido para controlar a atividade de SNAT, em animais noturnos, o AMPc também controla a transcrição do gene que codifica a SNAT. O mecanismo envolve a fosforilação dependente de PKA e de CREB (proteína de ligação ao elemento responsivo ao AMPc) ligada aos elementos responsivos ao AMPc (CREs) no promotor da *Snat* (COON *et al.*, 2001; BURKE *et al.*, 1999; SCHOMERUS *et al.*, 2000), que aumenta 100 vezes o RNAm de *Snat*. A amplitude deste aumento é modulado pelo repressor precoce de AMPc induzível, que compete com CREB pelos sítios de CRE (KORF *et al.*, 2003; STEHLE *et al.*, 2003; FOULKES *et al.*, 1997 – **fig. 1**).

A melatonina é metabolizada principalmente no cérebro e no fígado, porém a grande maioria das células expressam as monooxigenases microsossomais (citocromo P450, família 1, subfamília B, polipeptídio 1 – CYP1B1 e outros citocromos P450 como CYP1A1, CYP1A2) que formam a 6-hidroximelatonina (6-OH-MEL) (MA *et al.*, 2005). A seguir, a molécula hidroxilada se conjuga com um radicais sulfato ou glucoronato, sendo posteriormente excretada na urina sob as formas de glucuronídeo de 6-hidroximelatonina ou 6-sulfatoximelatonina (MACCHI *et al.*, 2004; MA *et al.*, 2005). Essa última representa 90% da concentração urinária de melatonina quando administrada em humanos, além de poder ser utilizada como referência de produção central de melatonina (MA *et al.*, 2005).

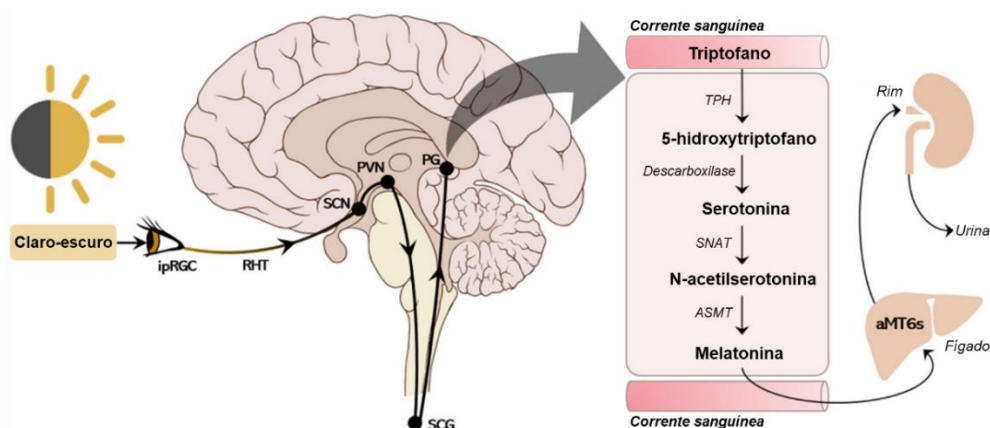


Figura 1 - A via canônica da produção de melatonina pela pineal. O SCN recebe informações fóticas ambientais coletadas por células ganglionares intrinsecamente fotossensíveis (ipRGC) na retina. Os ipRGCs expressam o fotopigmento melanopsina, que transduz comprimentos de onda de luz em *inputs*

neurais através do trato retino-hipotalâmico (RHT) para o SCN. O SCN inibe constitutivamente o núcleo paraventricular hipotalâmico (PVN) por meio das projeções GABAérgicas. Na ausência de luz, o PVN ativa os núcleos cervicais ganglionares (SCG), por meio da coluna intermediolateral da medula, desencadeando fibras noradrenérgicas que inervam a glândula pineal (PG), em última análise, liberando os co-transmissores noradrenalina e ATP. Este estímulo simpático desencadeia a ação, convertendo a serotonina (5-HT) em NAS dentro do pinealócito. Com a ação constitutiva da ASMT, a NAS é então convertida em melatonina e imediatamente liberado no líquido cefalorraquidiano e na corrente sanguínea. Por meio do metabolismo de primeira passagem no fígado, a melatonina é convertida em 6-sulfatoximetatonina (aMT6s), que é então excretada na urina (adaptado de TONON *et al.*, 2021).

Em primatas, 80% do transcriptoma segue ritmos circadianos (MURE *et al.*, 2018). Os genes do relógio, que atuam em todas as células, bem como a síntese noturna de melatonina pela glândula pineal são os responsáveis pela marcação do tempo. Os chamados “genes do relógio” formam uma alça de *feedback* negativo de transcrição-tradução com duração de cerca de 24h (**fig. 2**). O heterodímero BMAL1:CLOCK liga os elementos responsivos E-box do DNA e aumentam a transcrição de genes controlados pelo relógio, como algumas isoformas de PER, CRY, REV-ERB e ROR. Além de atuarem no reparo a danos do DNA e fechamento do ciclo celular, dentre suas inúmeras atividades reguladoras no citosol, as proteínas PER e CRY heterodimerizam-se no núcleo para suprimir a atividade BMAL1:CLOCK, inibindo sua própria transcrição até que seus níveis diminuam à medida que se degradam ao longo do tempo. Este ciclo também é regulado por outras proteínas do relógio, além de seus respectivos papéis extranucleares, ROR α aumenta a transcrição ligando-se ao elemento responsivo de ROR (RRE) no promotor de BMAL1, enquanto REV-ERB α a suprime (MASRI *et al.*, 2018). Outros produtos de genes controlados por relógio que servem como reguladores circadianos incluem DEC1 e DEC2, que além de outras funções no citosol, eles se ligam ao promotor E-box e impedem sua própria transcrição (SATO *et al.*, 2016). De forma geral, as proteínas do relógio central podem ser agrupadas como “membros positivos”, que impulsionam o relógio para frente (BMAL1, CLOCK, ROR α), ou “membros negativos” que se opõem a ele (PER1, PER2, PER3, CRY1, CRY2, REV-ERB α , DEC1, DEC2).

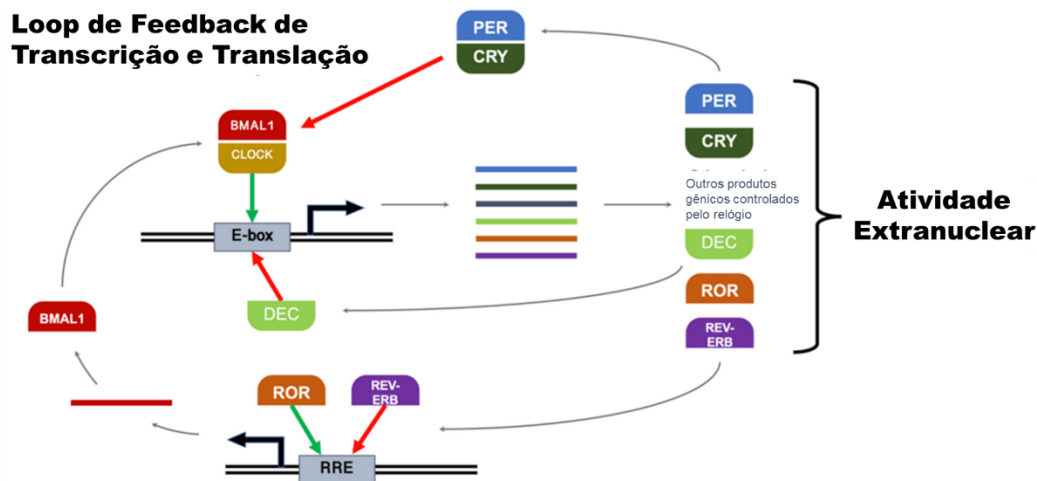


Figura 2. Alça de retroalimentação dos genes do relógio central. BMAL1:CLOCK liga E-box e aumenta a transcrição de genes controlada por relógio, incluindo transcrições de mRNA de PER, CRY, REV-ERB e ROR. Além das ações extranucleares, PER:CRY suprime a atividade BMAL1:CLOCK, inibindo sua própria transcrição. Este ciclo de ~24h é reforçado por outras proteínas do relógio; ROR α aumenta a transcrição ligando-se ao RRE no promotor BMAL1, e o REV-ERB α o suprime. As proteínas DEC ligam-se à E-box e impedem a sua própria transcrição. Verde = ação estimuladora; vermelho = ação inibitória; linhas duplas = DNA; linhas sólidas = transcritos de mRNA. (adaptado de NELSON *et al.*, 2022).

Melatonina: Uma Molécula Multifuncional

Por sua natureza anfifílica, a melatonina é capaz de atuar de maneira direta por poder difundir-se entre os compartimentos celulares. A principal atuação da melatonina, amplamente descrita, é a antioxidante. Dentre as mais diversas vias relatadas, algumas principais já conferem a ela a posição de potente moduladora do estado redox celular: (a) em altas concentrações (escala de mM), a melatonina age como direta doadora de elétrons (GALANO & REITER *et al.*, 2018; MAHAL *et al.*, 1999); (b) modula a atividade da superóxido dismutase, catalase, glutationa peroxidase e glutationa redutase, além de auxiliar na regeneração enzimas antioxidantes pelos processos redox. (LUCHETTI *et al.*, 2010); (c) reduz o estresse oxidativo através da regulação da expressão gênica da enzima sintase de óxido nítrico-sintase induzida (iNOS) (SHAFABAKHSH *et al.*, 2019); (d) o AFMK (N1-acetil-N2-formil-5-metoxiquinuramina) e o AMK (N1-acetil-5-metoxiquinuramina), metabólitos provenientes da oxidação da melatonina, também atuam como antioxidantes, sendo eles mais potentes que a própria (Hardeland *et al.*, 2003).

Além dos efeitos diretos da molécula de melatonina, funções mediadas por receptores são de alta relevância em sua atuação (**fig.3**). Ela apresenta alta afinidade (faixa de pM) pelos receptores acoplados à proteína G (GPCRs) MT1 e MT2, inicialmente descritos na membrana plasmática (REPPART *et al.*, 1996; CECON *et al.*, 2018). Os receptores MT1 e MT2 humanos são compostos por 350 e 362 aminoácidos e mostram uma homologia de sequência geral de 55% e 70% no domínio transmembrana (OISHI & JOCKERS, 2016). Ambos receptores já foram observados em diversas regiões do SNC (MAZZUCHELLI *et al.*, 1996; AL-GHOUL *et al.*, 1998; SAVASKAN *et al.*, 2005; WU *et al.*, 2013); além de tecidos periféricos como na retina, tecido adiposo branco e marrom, células alfa e beta pancreáticas, testículo, células da granulosa e miométrio, medula óssea, dentre outros (CECON *et al.*, 2018, GOLAN *et al.*, 2019). Durante o processo de envelhecimento e na doença de Alzheimer, a expressão do receptor MT1 no núcleo supraquiasmático (NSC) e córtex diminuem (PANDI-PERUMAL *et al.*, 2008). Na pele, os receptores MT2 estão localizados dentro de melanócitos normais e malignos e glândulas sudoríparas écrinas. Os receptores MT2 inibem as funções relacionadas ao receptor GABA-A no hipocampo de ratos, e na doença de Alzheimer a expressão do receptor MT2 é reduzida (DUBOCOVICH *et al.*, 2003). Os receptores MT2 estão envolvidos na atividade antidepressiva, além de contribuírem para a fisiopatologia e farmacologia dos distúrbios do sono, ansiedade e dor (COMAI & GOBBI, 2014; HARDELAND, 2012).

MT1 pode acoplar-se à proteína G α_q , ativando a via da fosfolipase C (PLC), e ambos os receptores MT1 e MT2 podem acoplar-se com a proteína G α_i , inibindo a sinalização de AMP cíclico/proteína quinase A (BRYDON *et al.*, 1999; OISHI *et al.*, 2018). A associação de MT1 e MT2 com outras proteínas G e moléculas sinalizadoras como β arrestinas e MAP quinases também foi relatada (BRYDON *et al.*, 1999; CECON *et al.*, 2018; KAMAL *et al.*, 2015). Uma variedade de moléculas são recrutadas, ativadas ou induzidas em resposta à melatonina, incluindo diacilglicerol, fosfolipase C (PLC), os segundos mensageiros inositol trifosfato, guanosina monofosfato cíclico (cGMP) e cálcio (Ca²⁺), além de quinases como PKA, PKC e a família de MAP quinase (CECON *et al.*, 2018). A nível transcricional, a sinalização de melatonina comumente regula a transcrição de genes sob o controle do fator de transcrição CREB e regula a transcrição de genes controlados por fatores de transcrição induzidos por ERK. Várias vias de sinalização adicionais foram relatadas para mediar os efeitos específicos da melatonina, algumas delas ocorrendo apenas em tipos celulares específicos (como células imunes) ou

em contexto específico (câncer), que compreende o conceito de viés do sistema em função do receptor (CECON *et al.*, 2018; SMITH *et al.*, 2018).

A organização dos receptores de melatonina pode ser monomérica, dimérica ou oligomérica, podendo estar em conformação homo ou heterodimérica entre si, ou também havendo heterodimerização com o receptor órfão acoplado à proteína G 50 (GPR50) (LEVOYE *et al.*, 2006). Em mamíferos, este receptor perdeu a capacidade de se ligar à melatonina e seu ligante endógeno é desconhecido, de modo que o GPR50 faz parte do grupo dos receptores-órfãos (DUFOURNY *et al.*, 2008; GAUTIER *et al.*, 2018). O dímero MT1/GPR50 forma um complexo incapaz de interagir com a melatonina e desencadear as vias de transdução subsequentes (LEVOYE *et al.*, 2006 – **fig. 3**). Sendo assim, este complexo promove um efeito modulatório negativo na atividade melatonérgica. Além dos receptores de melatonina estarem presentes na membrana plasmática, nos últimos anos são crescentes os estudos a respeito de mecanismos mediados por MT1 e MT2 na membrana das mitocôndrias, dentre outras organelas. MT1 já foi descrito na membrana mitocondrial externa, sendo capaz de inibir a produção de AMPc, que está relacionado com a proteção à lesões isquêmicas (WANG *et al.*, 2009; AHLUWALIA *et al.*, 2018; SUOFU *et al.*, 2017).

Além da ligação aos receptores MT1 e MT2, a melatonina também é capaz de se ligar ao receptor enzimático intracelular quinona redutase 2 (também chamado de MT3). Essa enzima pertence a um grupo de redutases que participam da proteção contra o estresse oxidativo, prevenindo reações de transferência de elétrons de quinonas (NOSJEAN *et al.*, 2000; CECON *et al.*, 2018). O receptor MT3 está localizado no fígado, rim, coração, pulmão, intestino, músculo e tecido adiposo marrom. É uma enzima de desintoxicação, havendo evidências de seu envolvimento na regulação da pressão intraocular (EKMEKCIOGLU, 2006). A melatonina também tem capacidade de se ligar aos receptores de hormônio nuclear órfão relacionado à retinóides (RZR/ROR α) (BECKER-ANDRE *et al.*, 1994). Efeitos imunomoduladores e anti tumorais do hormônio da pineal também dependem dessa sinalização nuclear (GARCIA-MAURINO *et al.*, 1998; WIESENBERG *et al.*, 1998).

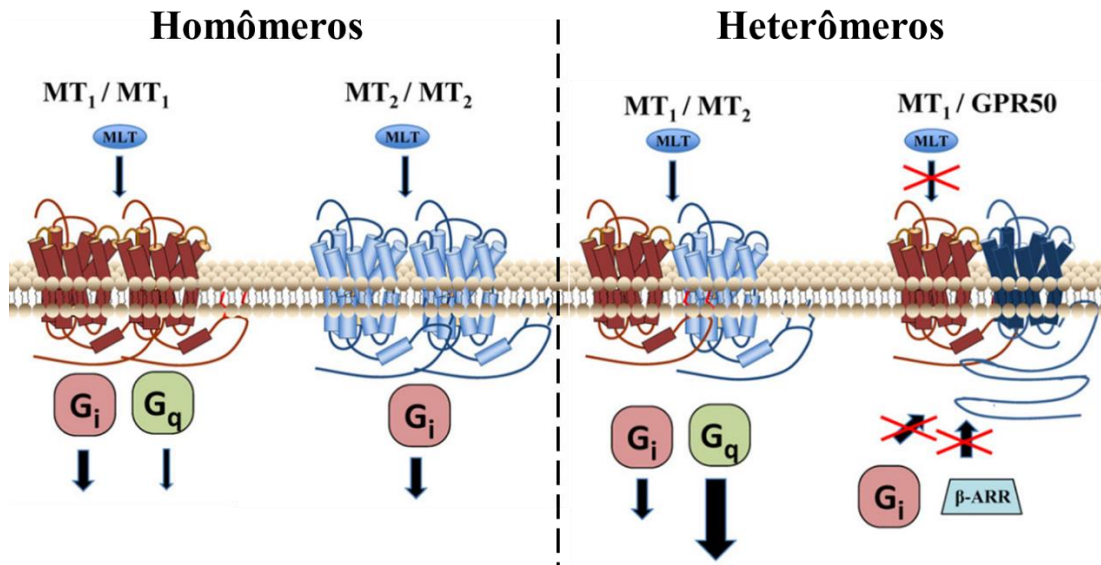


Figura 3. Sinalização de homômeros e heterômeros do receptor de melatonina. A ativação da melatonina dos homômeros MT1/MT1 desencadeia a sinalização intracelular predominantemente através da via Gi sobre a via Gq, enquanto os homômeros MT2/MT2 sinalizam exclusivamente através de proteínas Gi. No heterômero MT1/MT2, a sinalização da melatonina é direcionada para a ativação de Gq sobre Gi. Ao dimerizar com GPR50, o receptor MT1 perde sua capacidade de se ligar à melatonina, desencadear a sinalização Gi e recrutar β -arrestina (β -ARR). MLT, melatonina. (Adaptado de CECON *et al.*, 2018)

Na Saúde e na Doença: Melatonina e Sistema Imune

Por vários anos após sua descoberta, a melatonina foi considerada produzida exclusivamente pela glândula pineal. Posteriormente, a presença de enzimas de síntese de melatonina foi descrita na retina e cerebelo de roedores pinealectomizados (BUBENIK *et al.*, 1974; CARDINALI & ROSNER, 1971). Desde então, diversas fontes extra pineal de melatonina foram descritas, dentre elas estão o cérebro, a medula óssea, fígado, rim, baço, pâncreas, tireoide, trato gastrointestinal, cristalino, epitélio das vias aéreas, sistema reprodutivo, sistema imunológico e células endoteliais. (ACUÑA-CASTROVIEJO *et al.*, 2014; MARKUS *et al.*, 2018; GOLAN *et al.*, 2019). Interessantemente, a retirada da glândula pineal gera alterações em órgãos centrais na regulação do sistema imune, como timo e glândula adrenal (VAUGHAN & REITER, 1971; CSABA & BARÁTH, 1975). Diversos estudos posteriores corroboraram o papel

modulatório da melatonina sobre o sistema imunológico. No entanto, é relativamente recente a caracterização da via inversa, com a modulação exercida pelo sistema imune sobre a glândula pineal.

Nosso grupo de pesquisa tem se aprofundado no estudo das vias melatonérgicas e sua interação com o sistema imune, o que permitiu a construção e consolidação do conceito do Eixo Imune-Pineal, que consiste na mudança transitória na produção de melatonina da glândula pineal para células imunocompetentes/órgão. A via principal que foi cerne para a construção deste eixo é a via do fator nuclear κ B (NF κ B) (MARKUS *et al.*, 2007, 2013, 2018; MARKUS & FERREIRA, 2011). Essa comunicação bidirecional, promove uma estrutura para a compreensão do papel da melatonina na montagem e resolução das respostas imunes (DE OLIVEIRA TATSCH-DIAS *et al.*, 2013; PONTES *et al.*, 2006). Em linhas gerais, o aumento noturno da melatonina é conhecido por diminuir a migração transendotelial de leucócitos para o local injuriado, uma das etapas centrais da imunidade inata (LOTUFO *et al.*, 2001; MARÇOLA *et al.*, 2013; TAMURA *et al.*, 2010). Nos pinealócitos, os padrões moleculares associados a patógenos e perigo (PAMPs e DAMPs), ligam-se aos receptores de reconhecimento de padrões e promovem a translocação nuclear do fator de transcrição NF κ B (CARVALHO-SOUSA *et al.*, 2011; DA SILVEIRA CRUZ-MACHADO *et al.*, 2010). O NF κ B consiste numa família de proteínas que atuam como fatores de transcrição, sendo que dentre essas proteínas, p50 e p52 não apresentam domínio de transativação (TAD), enquanto as proteínas RelA, RelB e cRel apresentam TAD (LAWRENCE & FONG, 2010). Tendo em vista que apenas os dímeros que apresentam TAD são capazes de induzir a transcrição gênica, quando os dímeros de NF κ B são translocados para o núcleo e ligam-se a elementos responsivos κ B, de acordo com as subunidades que formam os dímeros NF κ B, o mesmo sinal extracelular pode ativar ou inibir a síntese de melatonina ao interagir com os elementos κ B presentes na região promotora e no primeiro íntron do gene da SNAT, enzima-chave para a síntese de melatonina (MARKUS *et al.*, 2007, 2018; MUXEL *et al.*, 2012, 2016). Dessa forma, a via NF κ B é diretamente responsável pela alternância entre a produção pineal e extra-pineal de melatonina na presença de um mesmo estímulo patogênico ou inflamatório.

Melatonina e Câncer

Visto a quantidade de mecanismos nos quais a melatonina está envolvida, a atenção para essa molécula no contexto tumoral vem aumentando exponencialmente, tanto por seu aspecto cronobiológico, como sendo um possível adjuvante no tratamento anti-câncer. Por exemplo, alterações nos padrões de atividade do sono, supressão da produção de melatonina e desregulação dos padrões de expressão de genes relacionados ao câncer estão todos ligados a uma diminuição nos níveis séricos de melatonina, que pode ocorrer como resultado da idade, de diversas doenças ou exposição à luz artificial durante a noite (BALL *et al.*, 2016; BOJKOVÁ *et al.*, 2018). Tanto que a exposição à luz constante mostrou encurtar o tempo de vida de ratos por desenvolvimento de síndrome metabólica e tumorigênese espontânea, efeitos esses que foram prevenidos pela administração de melatonina (ANISIMOV *et al.*, 2012). Sendo assim, desde 2007 a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) classificou o trabalho noturno envolvendo perturbação circadiana no grupo 2A, como provavelmente cancerígeno para humanos (Monografias IARC Vol 124, 2019).

Quando administrada em modelos *in vitro* e *in vivo* de câncer, a melatonina tem demonstrado importantes efeitos antitumorais, dentre eles está a modulação de diferentes metaloproteinases (MMPs) por mecanismos redox-dependentes que estão envolvidas em vários processos celulares como proliferação, angiogênese, apoptose, invasão e metástase (SWARNAKAR *et al.*, 2011; HO *et al.*, 2016). A nível de microRNAs, a melatonina está envolvida na regulação dos mesmos (como miRNA3195 e miRNA374b) que resultam em uma diminuição da capacidade angiogênica de células tumorais (SOHN *et al.*, 2015). Ainda, por meio da modulação da proteína quinase associada a Rho (ROCK-1) a melatonina apresentou efeitos oncostáticos, anti metastáticos e antiangiogênicos (BORIN *et al.*, 2016). Essa indolamina também apresentou efeitos na redução de migração e invasão de células tumorais mediadas por hipóxia em modelo de glioblastoma (ZHANG *et al.*, 2013). Além de todos supracitados, diversos outros processos em escala genômica, proteômica e metabolômica são influenciados por ação da melatonina no contexto tumoral (REITER *et al.*, 2017; SU *et al.*, 2017; SHAFABAKHSH *et al.*, 2019).

Alguns estudos mostram a presença dos receptores de melatonina e alguns tipos de câncer, como no melanoma, câncer de mama, de ovário, e glioblastoma (DANIELCZYK *et al.*, 2009; JABLONSKA *et al.*, 2014; KINKER *et al.*, 2021; ZEMŁA *et al.*, 2017). Estudos da ação da melatonina via receptores no ambiente tumoral ainda

são escassos, dentre eles, um estudo descreveu o impacto preditivo e prognóstico dos receptores de membrana da melatonina, MT1 e MT2, no carcinoma de pulmão de células não pequenas (CNPC) (JABLONSKA *et al.*, 2019). Outro estudo relatou que por meio de processos envolvendo o MT1 a melatonina limita a absorção celular do ácido linoleico, um ácido graxo convertido intracelularmente em ácido 13-hidroxiocetadecadienóico (13-HODE), impedindo a geração de eventos intracelulares que culminam na proliferação de células cancerígenas (HILL *et al.*, 2011). Mais recentemente, nosso grupo de pesquisa publicou um trabalho descrevendo a ação do receptor MT1 como anti-proliferativo e MT2 como pró-proliferativo em modelo de glioblastoma (KINKER *et al.*, 2021).

Mesmo com uma larga lista de trabalhos promissores voltados para a pesquisa básica, os ensaios clínicos no âmbito da melatonina e câncer ainda são escassos. Atualmente um total de 61 estudos com foco em melatonina e câncer estão ativos no portal ClinicalTrials.gov, sendo que desses apenas a metade está concluída. Além disso, visto a ampla gama de ações induzidas pela melatonina, muitos dos trabalhos focam em seus efeitos na melhora dos sintomas decorrentes da quimio/radioterapia do que especificamente a ação da dela como adjuvante efetivo no câncer. Dentre os resultados encontrados, foi observada a atuação da melatonina na melhora da qualidade de vida dos pacientes, como no alívio da dor, regulação do sono, melhora de sintomas como astenia e anorexia, além da redução do tempo e incidência de quadro de mucosite oral severa ou ulcerativa. (GONZÁLEZ *et al.*, 2019; LOZANO *et al.*, 2021). Alguns ensaios individuais mostram a ação da melatonina como adjuvante que indicam um aumento significativo na taxa de remissão tumoral e sobrevida do paciente em carcinoma colorretal e hepatocelular, câncer de pulmão e glioblastoma (LISSONI *et al.*, 1996, 2003; YAN *et al.*, 2002; CEREIA *et al.*, 2003). Porém são dados ainda limitados, e estudos um pouco mais recentes mostram inconsistências (BERK *et al.*, 2007; SOOKPRASERT *et al.*, 2014). A disparidade entre o alto número de estudos básicos com resultados promissores destacando o possível papel da melatonina como droga anticancerígena de estudos *in vitro* e *in vivo*, e o número extremamente baixo de ensaios clínicos para verificar seu valor, deve nos dar uma pausa para pensar sobre suas causas. Talvez a construção da referência da melatonina em muitos países como um suplemento alimentar com conotações ou associações não necessariamente clínicas tenha banalizado seu uso e, assim, exercido uma influência negativa em sua consolidação para uso em tratamentos de câncer. Impreterivelmente, existe uma clara necessidade de mais ensaios clínicos

randomizados em larga escala e multicêntricos para uma aplicação efetiva e segura da melatonina na clínica.

Desde poucos anos para cá mais um fator envolvendo o sistema melatonérgico e o contexto tumoral vem a chamado a atenção: a possibilidade dos próprios tumores produzirem melatonina localmente, atuando de forma autócrina e parácrina no microambiente tumoral. Visando essa temática, estudos acerca da interação da melatonina no contexto tumoral vêm sendo desenvolvidos pelo nosso grupo, e demonstramos desde 2016 que o grau de agressividade das linhagens de gliomas/glioblastomas é inversamente proporcional à produção de melatonina em cultura (KINKER *et al.*, 2016). Além disso, através da avaliação *in silico* da expressão gênica das enzimas das vias de síntese (*ASMT*) e degradação (*CYP1B1*) de melatonina, propusemos o MEL-Index, que se demonstrou um fator preditivo da sobrevivência de pacientes independente de sexo, idade ou classificação histológica (KINKER *et al.*, 2016). Com este índice foi possível estimar qual tumor seria capaz de produzir mais ou menos melatonina localmente, podendo essa modular o desenvolvimento tumoral de acordo com o contexto que o ambiente tumoral proporciona. Posteriormente, esse índice foi expandido para outros tipos tumorais, e complementado com os índices *ASMT:CYP1A1* e *ASMT:CYP1A2*, que englobam outras enzimas degradadoras de melatonina abundantes fora do SNC. Desse modo, o MEL-Index (índice *ASMT:CYP1B1*) também foi válido para diversos tipos de tumores sólidos como carcinoma de células claras do rim, adenocarcinoma de estômago, adenocarcinoma de colorretal e carcinoma urotelial (LV *et al.*, 2019). Ainda durante a pandemia mundial do vírus SARS-Cov-2 (COVID19), nosso grupo de pesquisa expandiu a utilização do Mel-Índice para avaliar a capacidade do pulmão de produzir melatonina localmente, de modo que este pode ser utilizado como um biomarcador da infecção em portadores assintomáticos e pré-sintomáticos (FERNANDES *et al.*, 2021).

Melatonina e Câncer de Bexiga

Tendo em vista o panorama das múltiplas ações da melatonina e sua forma de ser sintetizada e degradada, e da possibilidade dos próprios tumores produzirem melatonina localmente, percebemos uma grande pista em um tipo de tumor específico: os tumores de bexiga. Esse tipo tumoral, que apresentou correlação significativa entre o Mel-Index e a dicotomização prognóstica dos casos (LV *et al.*, 2019), possui a vantagem anatômica de ter sua via de excreção direta, fugindo dos mecanismos de segunda passagem hepáticos. Isso significa que um estudo aprofundado da produção de melatonina local de tumores uroteliais pode permitir o desenvolvimento de testes rápidos urinários com a concentração de melatonina (produção tumoral) versus a concentração de 6-sulfatoximelatonina (produção central já metabolizada), podendo essa relação ser tanto usada no auxílio ao diagnóstico como na estimativa de prognóstico como os que apontam os ensaios *in silico*.

O câncer de bexiga é a neoplasia maligna mais comum do trato urinário, está entre as dez neoplasias malignas mais comuns em todo o mundo, sendo o sexto mais frequente no sexo masculino, com cerca de 549.000 novos casos diagnosticados por ano (BRAY *et al.*, 2018; FERLAY *et al.*, 2019). No Brasil, só em 2019, esse tipo tumoral causou 4.517 mortes (INCA, 2019). Esse é o tipo de câncer que afeta as células uroteliais que revestem o lúmen da bexiga urinária, e o carcinoma de células transicionais (CCT), também denominado carcinoma urotelial, é o tipo mais frequente de câncer de bexiga com origem nas células uroteliais. Tumores da bexiga, trato urinário superior (pelve renal e ureteres) e uretra proximal são todos classificados como carcinoma urotelial. O câncer de bexiga é composto por 75% de carcinoma urotelial puro e 25% de histologia "variante", dificultando o tratamento (LOBO *et al.*, 2019).

O câncer de bexiga pode ser classificado com base em características histomorfológicas definidas descritas pela Organização Mundial da Saúde, dividido em doença de alto grau e doença de baixo grau. A profundidade da invasão da parede da bexiga determina o estágio do tumor. O câncer de bexiga não músculo-invasivo (NMIBC) é definido como tumores isolados no urotélio (estágio Ta) e na lâmina própria (estágio T1) e é tratado de forma diferente do câncer de bexiga músculo-invasivo (MIBC), que é definido como tumores que invadem o músculo (estágio T2) ou além (estágios T3 e T4). O carcinoma *in situ* (CIS) é um fenótipo distinto definido como uma lesão plana não invasiva de alto grau com taxas particularmente altas de recorrência e progressão (LENIS

et al., 2020). Como seus sintomas clássicos são principalmente a presença de sangue na urina, sintoma esse comum às diversas outras doenças do trato urinário, o diagnóstico precoce é dificultado, de modo que a maioria dos carcinomas uroteliais é diagnosticado principalmente após atingir a camada muscular, uma fase entre 10-15% dos pacientes que já apresentam uma condição metastática. (MUSHTAQ, 2019; CHOI *et al.*, 2014).

Trabalhos envolvendo melatonina ou o sistema melatonérgico com o câncer de bexiga ainda são escassos. Dentre eles, Chen e colaboradores (2019) demonstraram em um estudo *in vivo* que o tratamento com melatonina (100 mg/kg/dia) inibiu a proliferação, migração e invasão de células de câncer de bexiga via sinalização de metaloproteinase regulada por ZNF746/p-AKT (MMP-9/MMP-2). Outro trabalho mostra que polimorfismos de nucleotídeo único no gene *MNTR1A* (que codifica o receptor do tipo MT1) foram descobertos em um estudo clínico com uma amostra de pessoas saudáveis e pessoas com carcinoma de células uroteliais. Esses polimorfismos não induzem aumento das chances de uma pessoa saudável desenvolver câncer de bexiga, mas estão ligados a um risco maior de desenvolver estágios mais avançados da doença em pacientes que já possuem carcinoma urotelial (LIN *et al.*, 2017).

Apesar do grande avanço científico no estudo dos efeitos da melatonina no ambiente tumoral, sua efetiva aplicação na clínica como adjuvante no tratamento de pacientes oncológicos ainda é controversa, e nossa hipótese de trabalho é de que este fenômeno também se deva a uma produção local de melatonina pelas células tumorais que atuam na regulação do microambiente tumoral, mecanismo esse que até então não havia sido considerado. Vemos agora a melatonina com uma visão inovadora, não como hormônio do escuro ou como adjuvante no tratamento do câncer, mas sim como uma reguladora do ambiente tumoral. A relevância deste trabalho, por um lado, é ampliar nossos conhecimentos sobre a ação da melatonina endógena agindo de maneira autócrina na regulação dos processos fisiopatológicos locais. Por outro lado, o conhecimento gerado sobre a ação da melatonina via receptores também permitirá o desenvolvimento de fármacos com ação mais refinada, de modo a minimizar os efeitos inespecíficos e a maximizar a eficácia do tratamento de acordo com as características do sistema melatonérgico de cada tipo de câncer.

Conclusão

*“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar.
Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.*

Madre Teresa de Calcutá

CONCLUSÕES

Após a realização deste trabalho, conclui-se que:

- i. MEL-Index é aplicável para as linhagens RT4 e 5637, sendo mais alto para a primeira do que para a segunda. O MEL-Index não se aplica à linhagem de mais alta agressividade (T24), ressaltando a interferência da heterogeneidade tumoral em tumores mais agressivos.
- ii. Todas as linhagens de estudo apresentam expressão gênica e proteica das enzimas da via de síntese e degradação de melatonina, além de produção local dela em escala capaz de ativar receptores próprios (pM).
- iii. A ação da melatonina sobre as linhagens de carcinoma uroteliais avaliadas (RT4, 5637 e T24) está vinculada à concentração aplicada e a capacidade das linhagens receberem esta melatonina por receptores específicos.
 - a. Concentrações na faixa de pM – Aumentam a viabilidade das linhagens que apresentam receptores de melatonina (5637 e T24), e não causam alterações na viabilidade da linhagem que apresenta baixa expressão dos receptores de melatonina (RT4).
 - b. Concentrações na faixa de nM – Reduzem a viabilidade celular do carcinoma de alta agressividade (T24), aumentam a viabilidade da linhagem de média agressividade (5637) e não induzem alterações na viabilidade da linhagem de baixa agressividade (RT4).
 - c. Concentrações na faixa de mM – diminuem a viabilidade de todas as linhagens, indiscriminadamente.
- iv. As linhagens de média e alta agressividade (5637 e T24) apresentam alta expressão dos receptores de melatonina, com pontual destaque para o alto número de células positivas e alta intensidade de fluorescência de MT1 para a linhagem T24. Já a linhagem de baixa agressividade (RT4), apresenta baixa expressão dos receptores de melatonina.
- v. A ativação do receptor MT1 induz aumento da viabilidade celular das linhagens que apresentam alta expressão deste subtipo de receptor (5637 e T24).
- vi. A distribuição dos receptores de melatonina é diferencial entre as linhagens 5637 e T24, com presença de receptores de melatonina intracelulares em ambas e expressão de receptores de membrana na linhagem T24.

Os resultados obtidos mostram a relevância fisiopatológica do sistema melatonérgico nos tumores de bexiga, e o quanto a dinamicidade desse sistema tem ainda a ser elucidada. Fica ainda mais evidente que não há uma translação direta dos resultados obtidos em sobre o MEL-Index em gliomas para o carcinoma urotelial, o que não descarta a possibilidade de que esse índice possa servir de fator prognóstico de tempo de sobrevivência mais robusto para outros tipos tumorais. Um ponto interessante é que os dados funcionais com drogas (viabilidade celular por MTT) indicam direções opostas entre as linhagens quando tratadas com melatonina, ressaltando nesse tipo tumoral a importância da presença dos receptores de melatonina mais do que a produção local em si, porém que se complementam quando vemos que essa produção local está em concentrações compatíveis com a de ativação dos receptores.

Todas estas informações dão arcabouço para investigar ainda mais a relação entre os receptores de melatonina e sua presença nos diferentes compartimentos celulares dos tumores uroteliais, visto que podem promover efeitos diferentes de acordo com o tipo de receptor e a região onde são mais abundantes. Em função do panorama diferenciado do sistema melatonérgico em cada linhagem celular caracterizado ao longo deste estudo, percebe-se que o ponto alto deste trabalho é o fato dele não consistir na busca de um gene ou biomarcador estático que indique uma associação com processos pró ou antitumorais. Ao avaliar de forma longitudinal o papel da melatonina endógena e da melatonina exógena, focando a ativação e a regulação dos receptores, verificamos que o estudo da complexidade do sistema poderá revelar novos alvos terapêuticos seletivos e sítios que possam desencadear redução de efeitos colaterais.

OUTRAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NO PERÍODO

TRABALHOS APRESENTADOS CONGRESSOS

Quiles CL, Muxel SM, Córdoba-Moreno MO, Kinker, GS, Fernandes PA, Markus RP.

Título: “The Non-dark Side of Melatonin: Urothelial Carcinoma Self-Production of Melatonin Interferes on Cell Viability Differentially”. XV Latin American Symposium on Chronobiology, Colonia del Sacramento, Uruguay. Outubro de 2019.

Quiles CL, Muxel SM, Córdoba-Moreno MO, Kinker, GS, Fernandes PA, Markus RP.

Título: “Melatonergic System, but NOT Melatonin Content, Determines Differences in the Viability of Human Urothelial Carcinoma Cell Lines”. 51° Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Maceió, AL, Brasil. Setembro de 2019. Disponível em:

https://www.sbfte.org.br/wp-content/uploads/2019/12/Session_10_Cancer_Pharmacology.pdf

MENÇÃO HONROSA na Sessão de Painéis no setor 10. Cancer Pharmacology.

Disponível em: <https://www.sbfte.org.br/wp-content/uploads/2019/10/melhorespainéis2019.pdf>

Quiles CL, Muxel SM, Córdoba-Moreno MO, Kinker, GS, Fernandes PA, Markus RP.

Título: “Disclosing controversial melatonina effects in human urothelial carcinoma cell lines”. Next Frontiers to Cure Cancer 2019, A.C. Camargo Cancer Center, São Paulo, SP, Brasil. Maio de 2019.

Quiles CL, Muxel SM, Córdoba-Moreno MO, Kinker, GS, Fernandes PA, Markus RP.

Título: “Influence of Melatonergic System in Human Bladder Cancer Proliferation”. Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Ribeirão Preto, SP, Brasil. Setembro de 2018. Disponível em: https://www.sbfte.org.br/wp-content/uploads/2018/10/Session_10_CancerSBFTE2018.pdf

PUBLICAÇÕES EM COLABORAÇÃO:

Sousa KS, **Quiles CL**, Muxel S, Trevisan IL, Ferreira ZFS, Markus RP. Brain Damage-Linked ATP Promotes P2X7 Mediated Pineal Nacetylserotonin Release. *Neuroscience*, 2022. doi: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2022.06.039>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0306452222003426?CMX_ID=&SIS_ID=&dgcid=STMJ_AUTH_SERV_PUBLISHED&utm_acid=166300664&utm_campaign=STMJ_AUTH_SERV_PUBLISHED&utm_in=DM274768&utm_medium=email&utm_source=AC

Córdoba-Moreno MO, de Souza EDS, **Quiles CL**, et al. Rhythmic expression of the melatonergic biosynthetic pathway and its differential modulation in vitro by LPS and IL10 in bone marrow and spleen. *Sci Rep.* 2020;10(1):4799. Published 2020 Mar 16. doi:10.1038/s41598-020-61652-5. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-61652-5>

Sousa KS, **Quiles CL**, Ferreira ZFS, Markus RP. Título: “Pineal P2X7 triggered by intracerebral ATP turns NAS into a darkness hormone”. X Meeting of the Brazilian Purine Club. Junho de 2021. – Ganhador de MENSÃO HONROSA.

Sousa KS, **Quiles CL**, Ferreira ZFS, Markus RP. Título: “Purinergic signaling converts N-acetylserotonin into the pineal darkness hormone”. 51º Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Maceió, AL, Brasil. Setembro de 2019. Trabalho premiado como quinto colocado na Edição de 2019 do **PRÊMIO JOSÉ RIBEIRO DO VALLE**, conferido anualmente pela Sociedade Brasileira de Farmacologia e Terapêutica Experimental em parceria com Biolab-Sanus Farmacêutica.

AVALIAÇÕES EM FEIRAS

Participação da comissão avaliadora da 19ª Feira Brasileira de Ciências e Engenharia, FEBRACE, USP, São Paulo, SP, Brasil. Março de 2021.

Participação da comissão avaliadora da 17ª Feira Brasileira de Ciências e Engenharia, FEBRACE, USP, São Paulo, SP, Brasil. Março de 2019.

Participação como avaliadora de projetos na 3ª Experiência Beta, UNISINOS, São Leopoldo, RS, Brasil. Dezembro de 2018.

Participação como avaliadora de projetos na 2ª Experiência Beta, UNISINOS, São Leopoldo, RS, Brasil. Dezembro de 2017.

ORIENTAÇÃO DE ALUNOS EM ESTÁGIO DE CURTA DURAÇÃO

Curso de Inverno 2018 – Departamento de Fisiologia, IB – USP. 07/2018. Estágio intitulado “Cultura celular em linhagens celulares de câncer”. Projetos orientados:

- *Avaliação da influência do fotoperíodo na progressão tumoral em modelo xenobiótico de câncer de bexiga*. Orientandas: Débora Menezes de Souza e Gabriela Klein Barbosa.

- *Avaliação da influência da interação entre células derivadas de melanoma com tecido cardíaco em cultura organotípica*. Orientanda: Djenifer Hermann Sirena.

DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA

- Participação na atividade de divulgação científica “Ciência em 10” na 22ª Semana Temática da Biologia – IBUSP com apresentação do trabalho intitulado “A Interferência da Autoprodução de Melatonina por Carcinomas Uroteliais na Viabilidade Celular”. São Paulo, SP, Brasil. Outubro de 2019.
- Participação do concurso “Prêmio Vídeo Pós-Graduação”, promovido pela Pró-Reitoria de Pós Graduação – USP, com o vídeo intitulado “Melatonina, uma Molécula Multifacetada: Implicações no Câncer”. O vídeo está disponível no YouTube pelo canal do Instituto de Biociências através do link: <https://www.youtube.com/watch?v=0QJMquE5OMM>
- Criação da página “Melatonina na Saúde e na Doença”, onde resultados e notícias acerca de assuntos referentes à melatonina e cronofarmacologia são passados para a população geral de forma acessível e direta, sem perder o rigor científico. A página conta com mais de 1.000 seguidores, tendo o alcance de postagem de mais de 18.000 pessoas.

Exame de Qualificação

Título da aula/palestra: “*O Papel da Síntese, Degradação e Atividade dos Receptores de Melatonina em Culturas Celulares de Carcinomas Uroteliais*”.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Fernando Ribeiro Gomes (Presidente).

Departamento de Fisiologia. Instituto de Biociências. USP.

Profa. Dra. Leticia V. Costa-Lotufo. Departamento de Farmacologia.

Instituto de Ciências Biomédicas. USP.

Dr. Tiago Góss dos Santos.

Hospital AC Camargo/Fundação Antônio Prudente.

Data do Exame: 07 de fevereiro de 2020.

Conceito: A

Disciplinas da Pós-Graduação

BIF5791 - Neuroimunomodulação: Integração Funcional dos Sistemas Nervoso, Imune e Endócrino. 8 créditos; Conceito A.

BIO5741-3 - Ensaio Pedagógico para o Ensino de Biologia. Segundo semestre 2018. 2 créditos. Conceito A.

BIF5794-2 - Sinalização Celular. Segundo semestre 2018. 8 créditos. Conceito A.

Estágio no Programa de Aperfeiçoamento de Ensino (PAE):

- BIF0214 - Fisiologia Animal: Controle Interno e Reprodução (2019)

Supervisor: Prof^a. Débora Rejane Fior Chadi.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACKERMANN, Katrin; STEHLE, Jörg H. Melatonin Synthesis in the Human Pineal Gland: Advantages, Implications, and Difficulties. **Chronobiology International**, v. 23, n. 1–2, p. 369–379, 2006.
- ACUÑA-CASTROVIEJO, Darío; ESCAMES, Germaine; VENEGAS, Carmen; *et al.* Extrapineal melatonin: sources, regulation, and potential functions. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 71, n. 16, p. 2997–3025, 2014.
- AHLUWALIA, Amrita; BRZOZOWSKA, Iwona M.; HOA, Neil; *et al.* Melatonin signaling in mitochondria extends beyond neurons and neuroprotection: Implications for angiogenesis and cardio/gastroprotection. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 115, n. 9, p. E1942–E1943, 2018.
- AL-GHOUL, W. M.; HERMAN, M. D.; DUBOCOVICH, M. L. Melatonin receptor subtype expression in human cerebellum. **Neuroreport**, v. 9, n. 18, p. 4063–4068, 1998.
- AL-SARAIREH, Yousef M.; ALSHAMMARI, Fatemah O. F. O.; YOUSSEF, Ahmed M. M.; *et al.* Profiling of CYP4Z1 and CYP1B1 expression in bladder cancers. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 5581, 2021.
- ANISIMOV, Vladimir N.; VINOGRADOVA, Irina A.; PANCHENKO, Andrei V.; *et al.* Light-at-Night-Induced Circadian Disruption, Cancer and Aging. **Current Aging Science**, v. 5, n. 3, p. 170–177, .
- BALL, Lonnel J.; PALESH, Oxana; KRIEGSFELD, Lance J. The Pathophysiologic Role of Disrupted Circadian and Neuroendocrine Rhythms in Breast Carcinogenesis. **Endocrine Reviews**, v. 37, n. 5, p. 450–466, 2016.
- BECKER-ANDRÉ, M.; WIESENBERG, I.; SCHAEREN-WIEMERS, N.; *et al.* Pineal gland hormone melatonin binds and activates an orphan of the nuclear receptor superfamily. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 269, n. 46, p. 28531–28534, 1994.
- BERK, Lawrence; BERKEY, Brian; RICH, Tyvin; *et al.* Randomized phase II trial of high-dose melatonin and radiation therapy for RPA class 2 patients with brain metastases (RTOG 0119). **International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics**, v. 68, n. 3, p. 852–857, 2007.
- BERRIDGE, Michael V.; HERST, Patric M.; TAN, An S. Tetrazolium dyes as tools in cell biology: New insights into their cellular reduction. *In*: **Biotechnology Annual**

- Review.** [s.l.]: Elsevier, 2005, v. 11, p. 127–152. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1387265605110047>>. Acesso em: 11 maio 2022.
- BLASK, David E.; DAUCHY, Robert T.; SAUER, Leonard A. Putting cancer to sleep at night: the neuroendocrine/circadian melatonin signal. **Endocrine**, v. 27, n. 2, p. 179–188, 2005.
- BOJKOVÁ, Bianka; KUBATKA, Peter; QARADAKHI, Tawar; *et al.* Melatonin May Increase Anticancer Potential of Pleiotropic Drugs. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 12, p. E3910, 2018.
- BORIN, Thaiz Ferraz; ARBAB, Ali Syed; GELALETI, Gabriela Bottaro; *et al.* Melatonin decreases breast cancer metastasis by modulating Rho-associated kinase protein-1 expression. **Journal of Pineal Research**, v. 60, n. 1, p. 3–15, 2016.
- BRAY, Freddie; FERLAY, Jacques; SOERJOMATARAM, Isabelle; *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 68, n. 6, p. 394–424, 2018.
- BRYDON, Lena; ROKA, Florian; PETIT, Laurence; *et al.* Dual Signaling of Human Mella Melatonin Receptors via Gi2, Gi3, and Gq/11 Proteins. **Molecular Endocrinology**, v. 13, n. 12, p. 2025–2038, 1999.
- BUBENIK, G. A.; BROWN, G. M.; UHLIR, I.; *et al.* Immunohistological localization of N-acetyldolealkylamines in pineal gland, retina and cerebellum. **Brain Research**, v. 81, n. 2, p. 233–242, 1974.
- BUBENÍK, J.; BAREŠOVÁ, M.; VIKLICKÝ, V.; *et al.* Established cell line of urinary bladder carcinoma (T24) containing tumour-specific antigen. **International Journal of Cancer**, v. 11, n. 3, p. 765–773, 1973.
- BURKE, Z.; WELLS, T.; CARTER, D.; *et al.* Genetic targeting: the serotonin N-acetyltransferase promoter imparts circadian expression selectively in the pineal gland and retina of transgenic rats. **Journal of Neurochemistry**, v. 73, n. 4, p. 1343–1349, 1999.
- CARDINALI, DANIEL P.; ROSNER, JORGE M. Retinal Localization of the Hydroxyindole-O-methyl Transferase (HIOMT) in the Rat. **Endocrinology**, v. 89, n. 1, p. 301–303, 1971.
- CARVALHO-SOUSA, Cláudia; DA SILVEIRA CRUZ-MACHADO, Sanseray; TAMURA, Eduardo; *et al.* Molecular Basis for Defining the Pineal Gland and

- Pinealocytes as Targets for Tumor Necrosis Factor. **Frontiers in Endocrinology**, v. 2, p. 10, 2011.
- CECON, Erika; OISHI, Atsuro; JOCKERS, Ralf. Melatonin receptors: molecular pharmacology and signalling in the context of system bias. **British Journal of Pharmacology**, v. 175, n. 16, p. 3263–3280, 2018.
- CECON, Erika; OISHI, Atsuro; JOCKERS, Ralf. Melatonin receptors: molecular pharmacology and signalling in the context of system bias: Melatonin receptor system bias. **British Journal of Pharmacology**, v. 175, n. 16, p. 3263–3280, 2018.
- CEREA, G.; VAGHI, M.; ARDIZZOIA, A.; *et al.* Biomodulation of cancer chemotherapy for metastatic colorectal cancer: a randomized study of weekly low-dose irinotecan alone versus irinotecan plus the oncostatic pineal hormone melatonin in metastatic colorectal cancer patients progressing on 5-fluorouracil-containing combinations. **Anticancer Research**, v. 23, n. 2C, p. 1951–1954, 2003.
- CHEN, Yen-Ta; YANG, Chih-Chao; SHAO, Pei-Lin; *et al.* Melatonin-mediated downregulation of ZNF746 suppresses bladder tumorigenesis mainly through inhibiting the AKT-MMP-9 signaling pathway. **Journal of Pineal Research**, v. 66, n. 1, p. e12536, 2019.
- CHOI, Woonyoung; PORTEN, Sima; KIM, Seungchan; *et al.* Identification of Distinct Basal and Luminal Subtypes of Muscle-Invasive Bladder Cancer with Different Sensitivities to Frontline Chemotherapy. **Cancer Cell**, v. 25, n. 2, p. 152–165, 2014.
- CHOVANCOVA, Barbora; HUDECOVA, Sona; LENCESOVA, Lubomira; *et al.* Melatonin-Induced Changes in Cytosolic Calcium Might be Responsible for Apoptosis Induction in Tumour Cells. **Cellular Physiology and Biochemistry: International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology**, v. 44, n. 2, p. 763–777, 2017.
- COMAI, Stefano; GOBBI, Gabriella. Unveiling the role of melatonin MT2 receptors in sleep, anxiety and other neuropsychiatric diseases: a novel target in psychopharmacology. **Journal of psychiatry & neuroscience: JPN**, v. 39, n. 1, p. 6–21, 2014.
- COON, S. L.; WELLER, J. L.; KORF, H. W.; *et al.* cAmp regulation of arylalkylamine N-acetyltransferase (AANAT, EC 2.3.1.87): a new cell line (1E7) provides evidence of intracellular AANAT activation. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 26, p. 24097–24107, 2001.

- CSABA, G.; BARÁTH, P. Morphological changes of thymus and the thyroid gland after postnatal extirpation of pineal body. **Endocrinologia Experimentalis**, v. 9, n. 1, p. 59–67, 1975.
- DA SILVEIRA CRUZ-MACHADO, Sanseray; CARVALHO-SOUSA, Claudia Emanuele; TAMURA, Eduardo Koji; *et al.* TLR4 and CD14 receptors expressed in rat pineal gland trigger NFκB pathway. **Journal of Pineal Research**, v. 49, n. 2, p. 183–192, 2010.
- DANIELCZYK, Karolina; DZIEGIEL, Piotr. The Expression of MT1 Melatonin Receptor and Ki-67 Antigen in Melanoma Malignum. **Anticancer Research**, v. 29, n. 10, p. 3887–3895, 2009.
- DE OLIVEIRA TATSCH-DIAS, Mirella; LEVANDOVSKI, Rosa Maria; CUSTÓDIO DE SOUZA, Izabel Cristina; *et al.* The concept of the immune-pineal axis tested in patients undergoing an abdominal hysterectomy. **Neuroimmunomodulation**, v. 20, n. 4, p. 205–212, 2013.
- DEGUCHI, T.; AXELROD, J. Control of circadian change of serotonin N-acetyltransferase activity in the pineal organ by the beta-adrenergic receptor. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 69, n. 9, p. 2547–2550, 1972.
- DUBOCOVICH, Margarita L.; RIVERA-BERMUDEZ, Moises A.; GERDIN, Matthew J.; *et al.* Molecular pharmacology, regulation and function of mammalian melatonin receptors. **Frontiers in Bioscience: A Journal and Virtual Library**, v. 8, p. d1093-1108, 2003.
- DUFOURNY, Laurence; LEVASSEUR, Anthony; MIGAUD, Martine; *et al.* GPR50 is the mammalian ortholog of Mel1c: Evidence of rapid evolution in mammals. **BMC Evolutionary Biology**, v. 8, n. 1, p. 105, 2008.
- EKMEKCIOGLU, C. Melatonin receptors in humans: biological role and clinical relevance. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 60, n. 3, p. 97–108, 2006.
- ERREN, Thomas C.; REITER, Russel J. Melatonin: a universal time messenger. **Neuro Endocrinology Letters**, v. 36, n. 3, p. 187–192, 2015.
- FERLAY, J.; COLOMBET, M.; SOERJOMATARAM, I.; *et al.* Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. **International Journal of Cancer**, v. 144, n. 8, p. 1941–1953, 2019.

- FERNANDES, Pedro A.; KINKER, Gabriela S.; NAVARRO, Bruno V.; *et al.* Melatonin-Index as a biomarker for predicting the distribution of presymptomatic and asymptomatic SARS-CoV-2 carriers. **Melatonin Research**, v. 4, n. 1, p. 189–205, 2021.
- FERNANDES, PEDRO A.; TAMURA, EDUARDO K., *et al.* Dual effect of catecholamines and corticosterone crosstalk on pineal gland melatonin synthesis. *Neuroendocrinology* v.104, n.1, p.126-134, 2017.
- FOGH, J.; FOGH, J. M.; ORFEO, T. One hundred and twenty-seven cultured human tumor cell lines producing tumors in nude mice. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 59, n. 1, p. 221–226, 1977.
- FOULKES, N. S.; BORJIGIN, J.; SNYDER, S. H.; *et al.* Rhythmic transcription: the molecular basis of circadian melatonin synthesis. **Trends in Neurosciences**, v. 20, n. 10, p. 487–492, 1997.
- FRANKS, L. M.; RIGBY, Carolyn. HeLa Cells and RT4 Cells. **Science**, v. 188, n. 4184, p. 168–168, 1975.
- GALANO, Annia; MEDINA, Manuel E.; TAN, Dun Xian; *et al.* Melatonin and its metabolites as copper chelating agents and their role in inhibiting oxidative stress: a physicochemical analysis. **Journal of Pineal Research**, v. 58, n. 1, p. 107–116, 2015.
- GALANO, Annia; REITER, Russel J. Melatonin and its metabolites vs oxidative stress: From individual actions to collective protection. **Journal of Pineal Research**, v. 65, n. 1, p. e12514, 2018.
- GARCIA-MAURIÑO, S.; GONZALEZ-HABA, M. G.; CALVO, J. R.; *et al.* Involvement of nuclear binding sites for melatonin in the regulation of IL-2 and IL-6 production by human blood mononuclear cells. **Journal of Neuroimmunology**, v. 92, n. 1–2, p. 76–84, 1998.
- GAUTIER, Célia; GUENIN, Sophie-Penelope; RIEST-FERY, Isabelle; *et al.* Characterization of the Mel1c melatoninergetic receptor in platypus (*Ornithorhynchus anatinus*). **PLOS ONE**, v. 13, n. 3, p. e0191904, 2018.
- GOLAN, Karin; KOLLET, Orit; MARKUS, Regina P.; *et al.* Daily light and darkness onset and circadian rhythms metabolically synchronize hematopoietic stem cell differentiation and maintenance: The role of bone marrow norepinephrine, tumor necrosis factor, and melatonin cycles. **Experimental Hematology**, v. 78, p. 1–10, 2019.

- GONZÁLEZ, Alicia González; REVILLA, Noemi Rueda; EMILIO J, Sánchez-Barceló. Clinical uses of melatonin: evaluation of human trials on cancer treatment. **Melatonin Research**, v. 2, n. 2, p. 47–69, 2019.
- GUO, Pan; PI, Huifeng; XU, Shangcheng; *et al.* Melatonin Improves Mitochondrial Function by Promoting MT1/SIRT1/PGC-1 Alpha-Dependent Mitochondrial Biogenesis in Cadmium-Induced Hepatotoxicity In Vitro. **Toxicological Sciences**, v. 142, n. 1, p. 182–195, 2014.
- HAIM, Abraham; ZUBIDAT, Abed E. Artificial light at night: melatonin as a mediator between the environment and epigenome. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 370, n. 1667, p. 20140121, 2015.
- HAN, Yuyan; DEMORROW, Sharon; INVERNIZZI, Pietro; *et al.* Melatonin exerts by an autocrine loop antiproliferative effects in cholangiocarcinoma; its synthesis is reduced favoring cholangiocarcinoma growth. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 301, n. 4, p. G623–G633, 2011.
- HARDELAND, Rüdiger. Melatonin in aging and disease -multiple consequences of reduced secretion, options and limits of treatment. **Aging and Disease**, v. 3, n. 2, p. 194–225, 2012.
- HARDELAND, Rüdiger; COTO-MONTES, Ana; POEGGELER, Burkhard. Circadian rhythms, oxidative stress, and antioxidative defense mechanisms. **Chronobiology International**, v. 20, n. 6, p. 921–962, 2003.
- HILL, Steven M.; BELANCIO, Victoria P.; DAUCHY, Robert T.; *et al.* Melatonin: an inhibitor of breast cancer. **Endocrine-Related Cancer**, v. 22, n. 3, p. R183–R204, 2015.
- HILL, Steven M.; BLASK, David E.; XIANG, Shulin; *et al.* Melatonin and associated signaling pathways that control normal breast epithelium and breast cancer. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v. 16, n. 3, p. 235–245, 2011.
- HO, Hsin-Yu; LIN, Chiao-Wen; CHIEN, Ming-Hsien; *et al.* Melatonin suppresses TPA-induced metastasis by downregulating matrix metalloproteinase-9 expression through JNK/SP-1 signaling in nasopharyngeal carcinoma. **Journal of Pineal Research**, v. 61, n. 4, p. 479–492, 2016.
- IARC. **Night Shift Work**. [s.l.: s.n., s.d.]. Disponível em: <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Iarc-Monographs-On-The-Identification-Of-Carcinogenic-Hazards-To-Humans/Night-Shift-Work-2020>>.
Acesso em: 26 out. 2021.

- JABLONSKA, Karolina; NOWINSKA, Katarzyna; PIOTROWSKA, Aleksandra; *et al.* Prognostic Impact of Melatonin Receptors MT1 and MT2 in Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC). **Cancers**, v. 11, n. 7, p. E1001, 2019.
- JABLONSKA, Karolina; PULA, Bartosz; ZEMLA, Agata; *et al.* Expression of the MT1 Melatonin Receptor in Ovarian Cancer Cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 12, p. 23074–23089, 2014.
- KAMAL, Maud; GBAHOU, Florence; GUILLAUME, Jean-Luc; *et al.* Convergence of Melatonin and Serotonin (5-HT) Signaling at MT2/5-HT2C Receptor Heteromers*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 290, n. 18, p. 11537–11546, 2015.
- KARAMITRI, Angeliki; PLOUFFE, Bianca; BONNEFOND, Amélie; *et al.* Type 2 diabetes-associated variants of the MT2 melatonin receptor affect distinct modes of signaling. **Science Signaling**, v. 11, n. 545, p. ean6622, 2018.
- KARASEK, M. Melatonin, human aging, and age-related diseases. **Experimental Gerontology**, v. 39, n. 11–12, p. 1723–1729, 2004.
- KINKER, G. S.; OSTROWSKI, L. H.; RIBEIRO, P. A. C.; *et al.* MT1 and MT2 melatonin receptors play opposite roles in brain cancer progression. **Journal of Molecular Medicine**, v. 99, n. 2, p. 289–301, 2021.
- KINKER, Gabriela S.; OBA-SHINJO, Sueli M.; CARVALHO-SOUSA, Claudia E.; *et al.* Melatonergic system-based two-gene index is prognostic in human gliomas. **Journal of Pineal Research**, v. 60, n. 1, p. 84–94, 2016.
- KLEIN, D. C.; GANGULY, S.; COON, S.; *et al.* 14-3-3 Proteins and photoneuroendocrine transduction: role in controlling the daily rhythm in melatonin. **Biochemical Society Transactions**, v. 30, n. 4, p. 365–373, 2002.
- KLEIN, D.; WELLER, J. L. Adrenergic-adenosine 3',5'-monophosphate regulation of serotonin N-acetyltransferase activity and the temporal relationship of serotonin N-acetyltransferase activity synthesis of 3H-N-acetylserotonin and 3H-melatonin in the cultured rat pineal gland. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 186, n. 3, p. 516–527, 1973.
- KLEIN, David. Photoneural Regulation of the Mammalian Pineal Gland. **Ciba Foundation symposium**, v. 117, p. 38–56, 1985.
- KORF, H. W.; VON GALL, C.; STEHLE, J. The circadian system and melatonin: lessons from rats and mice. **Chronobiology International**, v. 20, n. 4, p. 697–710, 2003.
- L, Liu; Y, Xu; RJ, Reiter; *et al.* Inhibition of ERK1/2 Signaling Pathway is Involved in Melatonin's Antiproliferative Effect on Human MG-63 Osteosarcoma Cells.

- Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology**, v. 39, n. 6, 2016. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27832629/>>. Acesso em: 14 jun. 2022.
- LARSEN; ENQUIST; CARD. Characterization of the multisynaptic neuronal control of the rat pineal gland using viral transneuronal tracing. **European Journal of Neuroscience**, v. 10, n. 1, p. 128–145, 1998.
- LAWRENCE, Toby; FONG, Carol. The resolution of inflammation: anti-inflammatory roles for NF-kappaB. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 42, n. 4, p. 519–523, 2010.
- LEE, Sei-Jung; LEE, Hyun Jik; JUNG, Young Hyun; *et al.* Melatonin inhibits apoptotic cell death induced by *Vibrio vulnificus* VvhA via melatonin receptor 2 coupling with NCF-1. **Cell Death & Disease**, v. 9, n. 2, p. 48, 2018.
- LENIS, Andrew T.; LEC, Patrick M.; CHAMIE, Karim; *et al.* Bladder Cancer: A Review. **JAMA**, v. 324, n. 19, p. 1980–1991, 2020.
- LERNER, Aaron B.; CASE, James D.; HEINZELMAN, Richard V. STRUCTURE OF MELATONIN¹. **Journal of the American Chemical Society**, v. 81, n. 22, p. 6084–6085, 1959.
- LERNER, Aaron B.; CASE, James D.; TAKAHASHI, Yoshiyata; *et al.* ISOLATION OF MELATONIN, THE PINEAL GLAND FACTOR THAT LIGHTENS MELANOCYTES¹. **Journal of the American Chemical Society**, v. 80, n. 10, p. 2587–2587, 1958.
- LEVOYE, Angélique; DAM, Julie; AYOUB, Mohammed A; *et al.* The orphan GPR50 receptor specifically inhibits MT1 melatonin receptor function through heterodimerization. **The EMBO Journal**, v. 25, n. 13, p. 3012–3023, 2006.
- LI, Ya; LI, Sha; ZHOU, Yue; *et al.* Melatonin for the prevention and treatment of cancer. **Oncotarget**, v. 8, n. 24, p. 39896, 2017.
- LIN, Yung-Wei; WANG, Shian-Shiang; WEN, Yu-Ching; *et al.* Genetic Variations of Melatonin Receptor Type 1A are Associated with the Clinicopathologic Development of Urothelial Cell Carcinoma. **International Journal of Medical Sciences**, v. 14, n. 11, p. 1130–1135, 2017.
- LISSONI, P.; CHILELLI, M.; VILLA, S.; *et al.* Five years survival in metastatic non-small cell lung cancer patients treated with chemotherapy alone or chemotherapy and

- melatonin: a randomized trial. **Journal of Pineal Research**, v. 35, n. 1, p. 12–15, 2003.
- LISSONI, Paolo; MEREGALLI, Sofia; NOSETTO, Luca; *et al.* Increased Survival Time in Brain Glioblastomas by a Radioneuroendocrine Strategy with Radiotherapy plus Melatonin Compared to Radiotherapy Alone. **Oncology**, v. 53, n. 1, p. 43–46, 1996.
- LOBO, Niyati; SHARIAT, Shahrokh F.; GUO, Charles Chuanhai; *et al.* What Is the Significance of Variant Histology in Urothelial Carcinoma? **European Urology Focus**, v. 6, n. 4, p. 653–663, 2020.
- LOTUFO, C. M.; LOPES, C.; DUBOCOVICH, M. L.; *et al.* Melatonin and N-acetylserotonin inhibit leukocyte rolling and adhesion to rat microcirculation. **European Journal of Pharmacology**, v. 430, n. 2–3, p. 351–357, 2001.
- LOZANO, A.; MARRUECOS, J.; RUBIÓ, J.; *et al.* Randomized placebo-controlled phase II trial of high-dose melatonin mucoadhesive oral gel for the prevention and treatment of oral mucositis in patients with head and neck cancer undergoing radiation therapy concurrent with systemic treatment. **Clinical and Translational Oncology**, v. 23, n. 9, p. 1801–1810, 2021.
- LUCHETTI, Francesca; CANONICO, Barbara; BETTI, Michele; *et al.* Melatonin signaling and cell protection function. **The FASEB Journal**, v. 24, n. 10, p. 3603–3624, 2010.
- LV, Jia-Wei; ZHENG, Zi-Qi; WANG, Zi-Xian; *et al.* Pan-cancer genomic analyses reveal prognostic and immunogenic features of the tumor melatonergic microenvironment across 14 solid cancer types. **Journal of Pineal Research**, v. 66, n. 3, p. e12557, 2019.
- M., D. Mediavilla; E., J. Sanchez-Barcelo; D., X. Tan; *et al.* Basic Mechanisms Involved in the Anti-Cancer Effects of Melatonin. **Current Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 36, p. 4462–4481, 2010.
- MA, Xiaochao; IDLE, Jeffrey R.; KRAUSZ, Kristopher W.; *et al.* Metabolism of melatonin by human cytochromes p450. **Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals**, v. 33, n. 4, p. 489–494, 2005.
- MA, Zhiqiang; YANG, Yang; FAN, Chongxi; *et al.* Melatonin as a potential anticarcinogen for non-small-cell lung cancer. **Oncotarget**, v. 7, n. 29, p. 46768–46784, 2016.

- MACCHI, M. Mila; BRUCE, Jeffrey N. Human pineal physiology and functional significance of melatonin. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 25, n. 3, p. 177–195, 2004.
- MAHAL, H. S.; SHARMA, H. S.; MUKHERJEE, T. Antioxidant properties of melatonin: a pulse radiolysis study. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 5, p. 557–565, 1999.
- MANCHESTER, Lucien C.; COTO-MONTES, Ana; BOGA, Jose Antonio; *et al.* Melatonin: an ancient molecule that makes oxygen metabolically tolerable. **Journal of Pineal Research**, v. 59, n. 4, p. 403–419, 2015.
- MAO, Lulu; SUMMERS, Whitney; XIANG, Shulin; *et al.* Melatonin Represses Metastasis in Her2-positive Human Breast Cancer Cells by Suppressing RSK2 Expression. **Molecular cancer research : MCR**, v. 14, n. 11, p. 1159–1169, 2016.
- MARÇOLA, Marina; DA SILVEIRA CRUZ-MACHADO, Sanseray; FERNANDES, Pedro Augusto Carlos Magno; *et al.* Endothelial cell adhesiveness is a function of environmental lighting and melatonin level. **Journal of Pineal Research**, v. 54, n. 2, p. 162–169, 2013.
- MARKUS, Regina P.; CECON, Erika; PIRES-LAPA, Marco Antonio. Immune-pineal axis: nuclear factor κ B (NF- κ B) mediates the shift in the melatonin source from pinealocytes to immune competent cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 6, p. 10979–10997, 2013.
- MARKUS, Regina P.; FERNANDES, Pedro A.; KINKER, Gabriela S.; *et al.* Immune-pineal axis - acute inflammatory responses coordinate melatonin synthesis by pinealocytes and phagocytes. **British Journal of Pharmacology**, v. 175, n. 16, p. 3239–3250, 2018.
- MARKUS, Regina P.; FERREIRA, Zulma S. The Immune-Pineal Axis: the Role of Pineal and Extra-Pineal Melatonin in Modulating Inflammation. **Advances in Neuroimmune Biology**, v. 1, n. 1, p. 95–104, 2011.
- MARKUS, Regina P.; FERREIRA, Zulma S.; FERNANDES, Pedro A. C. M.; *et al.* The Immune-Pineal Axis: A Shuttle between Endocrine and Paracrine Melatonin Sources. **Neuroimmunomodulation**, v. 14, n. 3–4, p. 126–133, 2007.
- MARKUS, Regina P.; SOUSA, Kassiano S.; DA SILVEIRA CRUZ-MACHADO, Sanseray; *et al.* Possible Role of Pineal and Extra-Pineal Melatonin in Surveillance, Immunity, and First-Line Defense. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 22, p. 12143, 2021.

- MASANA, Monica I.; DOOLEN, Suzanne; ERSAHIN, Cagatay; *et al.* MT2 Melatonin Receptors Are Present and Functional in Rat Caudal Artery. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 302, n. 3, p. 1295–1302, 2002.
- MASRI, Selma; SASSONE-CORSI, Paolo. The emerging link between cancer, metabolism, and circadian rhythms. **Nature Medicine**, v. 24, n. 12, p. 1795–1803, 2018.
- MASTERS, J. R.; HEPBURN, P. J.; WALKER, L.; *et al.* Tissue culture model of transitional cell carcinoma: characterization of twenty-two human urothelial cell lines. **Cancer Research**, v. 46, n. 7, p. 3630–3636, 1986.
- MAZZUCHELLI, Cristina; PANNACCI, Marilou; NONNO, Romolo; *et al.* The melatonin receptor in the human brain: cloning experiments and distribution studies. **Molecular Brain Research**, v. 39, n. 1, p. 117–126, 1996.
- MCGRANAHAN, Nicholas; SWANTON, Charles. Biological and Therapeutic Impact of Intratumor Heterogeneity in Cancer Evolution. **Cancer Cell**, v. 27, n. 1, p. 15–26, 2015.
- MENAKER, M.; MOREIRA, L. F.; TOSINI, G. Evolution of circadian organization in vertebrates. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira De Pesquisas Medicas E Biologicas**, v. 30, n. 3, p. 305–313, 1997.
- MOORE, Robert Y. Neural control of the pineal gland. **Behavioural Brain Research**, v. 73, n. 1–2, p. 125–130, 1995.
- MOORE, Robert Y.; EICHLER, Victor B. Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. **Brain Research**, v. 42, n. 1, p. 201–206, 1972.
- MURE, Ludovic S.; LE, Hiep D.; BENEGLIAMO, Giorgia; *et al.* Diurnal transcriptome atlas of a primate across major neural and peripheral tissues. **Science (New York, N.Y.)**, v. 359, n. 6381, p. eaao0318, 2018.
- MUSHTAQ, Jameel; THURAIRAJA, Ramesh; NAIR, Rajesh. Bladder cancer. **Surgery - Oxford International Edition**, v. 37, n. 9, p. 529–537, 2019.
- MUXEL, Sandra Marcia; LARANJEIRA-SILVA, Maria Fernanda; CARVALHO-SOUSA, Claudia Emanuelle; *et al.* The RelA/cRel nuclear factor- κ B (NF- κ B) dimer, crucial for inflammation resolution, mediates the transcription of the key enzyme in melatonin synthesis in RAW 264.7 macrophages. **Journal of Pineal Research**, v. 60, n. 4, p. 394–404, 2016.

- MUXEL, Sandra Marcia; PIRES-LAPA, Marco Antonio; MONTEIRO, Alex Willian Arantes; *et al.* NF- κ B drives the synthesis of melatonin in RAW 264.7 macrophages by inducing the transcription of the arylalkylamine-N-acetyltransferase (AA-NAT) gene. **PloS One**, v. 7, n. 12, p. e52010, 2012.
- NELSON, Nicolas; LOMBARDO, Joseph; MATLACK, Lauren; *et al.* Chronoradiobiology of Breast Cancer: The Time Is Now to Link Circadian Rhythm and Radiation Biology. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 3, p. 1331, 2022.
- NOSJEAN, O.; FERRO, M.; COGE, F.; *et al.* Identification of the melatonin-binding site MT3 as the quinone reductase 2. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 275, n. 40, p. 31311–31317, 2000.
- OISHI, Atsuro; CECON, Erika; JOCKERS, Ralf. Melatonin Receptor Signaling: Impact of Receptor Oligomerization on Receptor Function. **International Review of Cell and Molecular Biology**, v. 338, p. 59–77, 2018.
- OISHI, Atsuro; JOCKERS, Ralf. Melatonin Receptor MT1 and MT2. *In*: CHOI, Sangdun (Org.). **Encyclopedia of Signaling Molecules**. New York, NY: Springer New York, 2016, p. 1–6. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4614-6438-9_101751-1>. Acesso em: 4 jun. 2022.
- PANDI-PERUMAL, Seithikurippu R.; TRAKHT, Ilya; SRINIVASAN, Venkataramanujan; *et al.* Physiological effects of melatonin: role of melatonin receptors and signal transduction pathways. **Progress in Neurobiology**, v. 85, n. 3, p. 335–353, 2008.
- PARIENTE, Roberto; BEJARANO, Ignacio; RODRÍGUEZ, Ana Beatriz; *et al.* Melatonin increases the effect of 5-fluorouracil-based chemotherapy in human colorectal adenocarcinoma cells in vitro. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 440, n. 1–2, p. 43–51, 2018.
- PARONI, Rita; TERRANEO, Laura; BONOMINI, Francesca; *et al.* Antitumour activity of melatonin in a mouse model of human prostate cancer: relationship with hypoxia signalling. **Journal of Pineal Research**, v. 57, n. 1, p. 43–52, 2014.
- PATERNOSTER, Laura; RADOGNA, Flavia; ACCORSI, Augusto; *et al.* Melatonin as a modulator of apoptosis in B-lymphoma cells. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1171, p. 345–349, 2009.
- PONTES, Gerlândia N.; CARDOSO, Elaine C.; CARNEIRO-SAMPAIO, Magda M. S.; *et al.* Injury switches melatonin production source from endocrine (pineal) to

- paracrine (phagocytes) – melatonin in human colostrum and colostrum phagocytes. **Journal of Pineal Research**, v. 41, n. 2, p. 136–141, 2006.
- POSADZKI, Pawel P.; BAJPAI, Ram; KYAW, Bhone Myint; *et al.* Melatonin and health: an umbrella review of health outcomes and biological mechanisms of action. **BMC Medicine**, v. 16, p. 18, 2018.
- REITER, Russel J. Melatonin: The chemical expression of darkness. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 79, n. 1, p. C153–C158, 1991.
- REITER, Russel J.; ROSALES-CORRAL, Sergio A.; TAN, Dun-Xian; *et al.* Melatonin, a Full Service Anti-Cancer Agent: Inhibition of Initiation, Progression and Metastasis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 4, p. 843, 2017.
- REPPART, Steven M.; WEAVER, David R.; GODSON, Catherine. Melatonin receptors step into the light: cloning and classification of subtypes. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 17, n. 3, p. 100–102, 1996.
- SANLI, Oner; DOBRUCH, Jakub; KNOWLES, Margaret A.; *et al.* Bladder cancer. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, n. 1, p. 17022, 2017.
- SATO, Fuyuki; BHAWAL, Ujjal K.; YOSHIMURA, Tomohiro; *et al.* DEC1 and DEC2 Crosstalk between Circadian Rhythm and Tumor Progression. **Journal of Cancer**, v. 7, n. 2, p. 153–159, 2016.
- SAVASKAN, Egemen; AYOUB, Mohammed A.; RAVID, Rivka; *et al.* Reduced hippocampal MT2 melatonin receptor expression in Alzheimer's disease. **Journal of Pineal Research**, v. 38, n. 1, p. 10–16, 2005.
- SCHOMERUS, C.; KORF, H. W.; LAEDTKE, E.; *et al.* Selective adrenergic/cyclic AMP-dependent switch-off of proteasomal proteolysis alone switches on neural signal transduction: an example from the pineal gland. **Journal of Neurochemistry**, v. 75, n. 5, p. 2123–2132, 2000.
- SHAFABAKHSH, Rana; REITER, Russel J.; DAVOODABADI, Abdoulhossein; *et al.* Melatonin as a potential inhibitor of colorectal cancer: Molecular mechanisms. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 120, n. 8, p. 12216–12223, 2019.
- SHIDA, C. S.; CASTRUCCI, A. M.; LAMY-FREUND, M. T. High melatonin solubility in aqueous medium. **Journal of Pineal Research**, v. 16, n. 4, p. 198–201, 1994.
- SHRESTHA, Sandeep; ZHU, Jiabin; WANG, Qi; *et al.* Melatonin potentiates the antitumor effect of curcumin by inhibiting IKK β /NF- κ B/COX-2 signaling pathway. **International Journal of Oncology**, v. 51, n. 4, p. 1249–1260, 2017.

- SIMONNEAUX, Valerie; RIBELAYGA, Christophe. Generation of the melatonin endocrine message in mammals: a review of the complex regulation of melatonin synthesis by norepinephrine, peptides, and other pineal transmitters. **Pharmacological Reviews**, v. 55, n. 2, p. 325–395, 2003.
- SLOMINSKI, Radomir M.; REITER, Russel J.; SCHLABRITZ-LOUTSEVITCH, Natalia; *et al.* Melatonin membrane receptors in peripheral tissues: Distribution and functions. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 351, n. 2, p. 152–166, 2012.
- SMITH, Jeffrey S.; LEFKOWITZ, Robert J.; RAJAGOPAL, Sudarshan. Biased signalling: from simple switches to allosteric microprocessors. **Nature Reviews. Drug Discovery**, v. 17, n. 4, p. 243–260, 2018.
- SOHN, Eun Jung; WON, Gunho; LEE, Jihyun; *et al.* Upregulation of miRNA3195 and miRNA374b Mediates the Anti-Angiogenic Properties of Melatonin in Hypoxic PC-3 Prostate Cancer Cells. **Journal of Cancer**, v. 6, n. 1, p. 19–28, 2015.
- SOOKPRASERT, Aumkhae; JOHNS, Nutjaree Pratheepawanit; PHUNMANEE, Anakapong; *et al.* Melatonin in patients with cancer receiving chemotherapy: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Anticancer Research**, v. 34, n. 12, p. 7327–7337, 2014.
- STEHLE, J. H.; VON GALL, C.; KORF, H.-W. Melatonin: a clock-output, a clock-input. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 15, n. 4, p. 383–389, 2003.
- STEPHAN, Friedrich K.; ZUCKER, Irving. Circadian Rhythms in Drinking Behavior and Locomotor Activity of Rats Are Eliminated by Hypothalamic Lesions. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 69, n. 6, p. 1583–1586, 1972.
- SU, Shih-Chi; HSIEH, Ming-Ju; YANG, Wei-En; *et al.* Cancer metastasis: Mechanisms of inhibition by melatonin. **Journal of Pineal Research**, v. 62, n. 1, p. e12370, 2017.
- SUOFU, Yalikusun; LI, Wei; JEAN-ALPHONSE, Frédéric G.; *et al.* Dual role of mitochondria in producing melatonin and driving GPCR signaling to block cytochrome c release. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 114, n. 38, p. E7997–E8006, 2017.
- SWARNAKAR, Snehasikta; PAUL, Sumit; SINGH, Laishram Pradeepkumar; *et al.* Matrix metalloproteinases in health and disease: regulation by melatonin. **Journal of Pineal Research**, v. 50, n. 1, p. 8–20, 2011.
- TAMURA, Eduardo Koji; FERNANDES, Pedro Augusto; MARÇOLA, Marina; *et al.* Long-Lasting Priming of Endothelial Cells by Plasma Melatonin Levels. **PLOS ONE**, v. 5, n. 11, p. e13958, 2010.

- TAN, Dun-Xian; HARDELAND, Rüdiger; MANCHESTER, Lucien C.; *et al.* The changing biological roles of melatonin during evolution: from an antioxidant to signals of darkness, sexual selection and fitness. **Biological Reviews**, v. 85, n. 3, p. 607–623, 2010.
- TAN, Dun-Xian; MANCHESTER, Lucien C.; ESTEBAN-ZUBERO, Eduardo; *et al.* Melatonin as a Potent and Inducible Endogenous Antioxidant: Synthesis and Metabolism. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 20, n. 10, p. 18886–18906, 2015.
- TAN, Dun-Xian; MANCHESTER, Lucien C.; LIU, Xiaoyan; *et al.* Mitochondria and chloroplasts as the original sites of melatonin synthesis: a hypothesis related to melatonin's primary function and evolution in eukaryotes. **Journal of Pineal Research**, v. 54, n. 2, p. 127–138, 2013.
- TECLEMARIAM-MESBAH, R.; TER HORST, G.j.; POSTEMA, F.; *et al.* Anatomical demonstration of the suprachiasmatic nucleus–pineal pathway. **Journal of Comparative Neurology**, v. 406, n. 2, p. 171–182, 1999.
- TONON, André C.; PILZ, Luísa K.; MARKUS, Regina P.; *et al.* Melatonin and Depression: A Translational Perspective From Animal Models to Clinical Studies. **Frontiers in Psychiatry**, v. 12, p. 452, 2021.
- VALLO, Stefan; MICHAELIS, Martin; ROTHWEILER, Florian; *et al.* Drug-Resistant Urothelial Cancer Cell Lines Display Diverse Sensitivity Profiles to Potential Second-Line Therapeutics. **Translational Oncology**, v. 8, n. 3, p. 210–216, 2015.
- VANECEK, Jiri; SUGDEN, David; WELLER, J.; *et al.* See-Saw Signal Processing in Pinealocytes Involves Reciprocal Changes in the α 1Adrenergic Component of the Cyclic GMP Response and the β Adrenergic Component of the Cyclic AMP Response. **Journal of Neurochemistry - J NEUROCHEM**, v. 47, p. 678–686, 2006.
- VAUGHAN, M. K.; REITER, R. J. Transient hypertrophy of the ventral prostate and coagulating glands and accelerated thymic involution following pinealectomy in the mouse. **Texas Reports on Biology and Medicine**, v. 29, n. 4, p. 579–586, 1971.
- WANG, X. T.; CHEN, C. W.; ZHENG, X. M.; *et al.* Expression and prognostic significance of melatonin receptor MT1 in patients with gastric adenocarcinoma. **Neoplasma**, v. 67, n. 02, p. 415–420, 2020.
- WANG, Xin; FIGUEROA, Bryan E.; STAVROVSKAYA, Irina G.; *et al.* Methazolamide and Melatonin Inhibit Mitochondrial Cytochrome C Release and Are

- Neuroprotective in Experimental Models of Ischemic Injury. **Stroke**, v. 40, n. 5, p. 1877–1885, 2009.
- WIESENBERG, I.; MISSBACH, M.; CARLBERG, C. The potential role of the transcription factor RZR/ROR as a mediator of nuclear melatonin signaling. **Restorative Neurology and Neuroscience**, v. 12, n. 2–3, p. 143–150, 1998.
- WU, Ying-Hui; URSINUS, Jeanine; ZHOU, Jiang-Ning; *et al.* Alterations of melatonin receptors MT1 and MT2 in the hypothalamic suprachiasmatic nucleus during depression. **Journal of Affective Disorders**, v. 148, n. 2, p. 357–367, 2013.
- WURTMAN, R. J.; AXELROD, J. THE PINEAL GLAND. **Scientific American**, v. 213, p. 50–60, 1965.
- YAN, Jian-Jun; SHEN, Feng; WANG, Kui; *et al.* Patients with advanced primary hepatocellular carcinoma treated by melatonin and transcatheter arterial chemoembolization: a prospective study. **Hepatobiliary & pancreatic diseases international: HBPD INT**, v. 1, n. 2, p. 183–186, 2002.
- ZAMFIR CHIRU, A. A.; POPESCU, C. R.; GHEORGHE, D. C. Melatonin and cancer. **Journal of Medicine and Life**, v. 7, n. 3, p. 373–374, 2014.
- ZEMŁA, Agata; GRZEGOREK, Irmina; DZIĘGIEL, Piotr; *et al.* Melatonin Synergizes the Chemotherapeutic Effect of Cisplatin in Ovarian Cancer Cells Independently of MT1 Melatonin Receptors. **In Vivo (Athens, Greece)**, v. 31, n. 5, p. 801–809, 2017.
- ZHANG, Yanmin; LIU, Qian; WANG, Fuwu; *et al.* Melatonin antagonizes hypoxia-mediated glioblastoma cell migration and invasion via inhibition of HIF-1 α . **Journal of Pineal Research**, v. 55, n. 2, p. 121–130, 2013.
- Biased signalling: from simple switches to allosteric microprocessors | Nature Reviews Drug Discovery.** Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrd.2017.229>. Acesso em: 5 jun. 2022.
- Melatonin receptors in humans: biological role and clinical relevance - ScienceDirect.** Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0753332206000114?via%3Dihub>. Acesso em: 9 jun. 2022.
- Oncostatic activities of melatonin: Roles in cell cycle, apoptosis, and autophagy | Elsevier Enhanced Reader.** Disponível em: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0300908422001298?token=8D1025B40A25FBE20D1FE821FB008C46A619F0744AFBE7380089EFF498F1AC377F20A>

[9BA197BB9659D0D03F77C3F141F&originRegion=us-east-1&originCreation=20220604223836](#)>. Acesso em: 4 jun. 2022.

One Hundred and Twenty-Seven Cultured Human Tumor Cell Lines Producing Tumors in Nude Mice²³ | **JNCI: Journal of the National Cancer Institute | Oxford Academic**. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jnci/article-abstract/59/1/221/888247?redirectedFrom=fulltext&login=false>>. Acesso em: 13 mar. 2022.