

Fibrosarcoma congenito in remissione completa con Somatostatina, Bromocriptina, Retinoidi, Vitamina D3, Vitamina E, Vitamina C, Melatonina, Calcio, Condroitinsolfato associati a microdosi di Ciclofosfamide. Un Case Report con Follow Up di 14 anni.

ABSTRACT

Un bimbo ha presentato alla nascita una neoformazione di 6 cm all'arto inferiore destro, asportata parzialmente, quindi, dopo soli 12 giorni. L'esame istologico ha evidenziato un fibrosarcoma congenito associato a linfadenite reattiva. Un primo trattamento chemioterapico adiuvante non ne ha impedito la rapida progressione. Una successiva valutazione per un'asportazione chirurgica destò gravi perplessità per la necessità di un intervento massivo consistente nell'amputazione totale dell'arto inferiore destro estesa ad emipelvectomy. Considerando il fatto che l'intervento non poteva escludere del tutto la ripresa di malattia e che i tradizionali cicli chemioterapici non avevano alcuna possibilità di ottenerne la guarigione, i genitori optarono per il Metodo Di Bella (MDB). L'impiego sinergico di Somatostatina, Melatonina, Retinoidi solubilizzati in Vit. E, Vit. C, D₃, Calcio, Condroitinsolfato associato a microdosi di Ciclofosfamide ha prodotto una risposta obiettiva completa e stabile da 14 anni in assenza di tossicità e senza necessità di ricovero ospedaliero, consentendo una normale qualità della vita ed uno sviluppo psicofisico perfettamente regolare nell'adolescente.

KEY WORDS

Sarcoma; Somatostatin; Bromocriptin, Retinoid; Melatonin; Vitamin D.

INTRODUCTION

Il fibrosarcoma è una neoplasia maligna che si sviluppa dai fibroblasti e colpisce soprattutto la cute, tendini fasce muscolari e periostio. Fa parte del gruppo dei Sarcomi delle Parti Molli di cui rappresenta il 10% dei casi pediatrici ed è il più comune tumore dei tessuti molli nei bambini al di sotto dell'anno di età. Il trattamento di elezione è l'asportazione chirurgica, non essendo la chemioterapia, come in tutti i tumori solidi, in grado di eradicare il tumore. Si opera tramite rimozione chirurgica della massa neoplastica e, nel caso della forma che riguarda le metafisi, si ricorre all'amputazione. La chirurgia è quindi di fondamentale importanza e può costituire l'unico trattamento risolutivo. In alcuni casi, sulla base delle caratteristiche del tumore, si somministrano cicli di chemioterapici prima dell'intervento chirurgico per ridurre le dimensioni del tumore primitivo.

I farmaci più attivi e studiati sono ifosfamide e doxorubicina o adriamicina. Nelle forme infantili, in considerazione della prognosi migliore e dell'età dei pazienti, vengono usati anche altri farmaci potenzialmente meno tossici come vincristina e l'actinomicina. Nessuno di questi protocolli è comunque in grado di dare risultati rilevanti, ma gli effetti si limitano ad una

temporanea riduzione volumetrica del tumore, non ottenuta peraltro in una percentuale elevata di casi.

L'uso della radioterapia viene riservato a casi selezionati per gli effetti collaterali che potrebbero derivare dal trattamento (ad esempio nei bambini molto piccoli). Le possibilità di guarigione dipendono unicamente dalla chirurgia e sono legate all'asportazione completa del tumore (condizionata dalla sede di malattia, dimensioni del tumore e rapporti con gli organi vicini).

Riteniamo di portare all'attenzione il caso descritto in quanto documenta, per la prima volta, la possibilità di una risposta obiettiva completa e stabile di un fibrosarcoma congenito, ottenuto da oltre 14 anni, mediante la terapia biologica MDB. Altri punti di rilevanza sono da individuare nell'assenza di tossicità di questa terapia e nella possibilità di praticarla a domicilio.

CLINICAL FINDINGS - DIAGNOSTIC FOCUS AND ASSESSMENT

Il bambino nasce in data 28.12.1998 con parto eutocico e presenta neoformazione inguinale del dm di circa 6 cm estesa alla parte anteromediale prossimale dell'arto inferiore destro.

11.01.1999 - L'esame **istologico** evidenziò : *"" Neoplasia costituita da popolazione monomorfa di cellule fusate con modesto pleomorfismo cellulare riferibile a fibroblasti e piccole rotonde di natura linfocitaria. Basso indice mitotico...""* **Immunoistochimica:** Vimentina (+) - Desmina (-) - CK (-) - Actina Musc.liscio (-) - Actina musc.striato (-) Linfoghiandola (H 15 B-99): Linfadenite reattiva

15.01.1999 - *Dimissione ospedaliera dopo intervento di asportazione parziale del Fibrosarcoma congenito arto inferiore destro.*

04.02.1999: Chemioterapia adiuvante (4 cicli VA), che non ne ha impedito una successiva e rapida progressione.

05.03.1999 Ecografia: *""...la neoformazione precedentemente descritta al 3° prossimale della coscia dx appare di poco aumentata di volume, mantenendo invariate le caratteristiche ecostrutturali. Dimensioni: 47x23 mm...""*

La valutazione di una ulteriore soluzione chirurgica destò gravi perplessità per l'ampiezza dell'intervento, comprendente l'amputazione totale dell'arto inferiore dx estesa ad emipelvectomy.

TERAPEUTIC FOCUS AND ASSESSMENT

Considerando il fatto che, malgrado il carattere invalidante, l'intervento non poteva escludere la ripresa di malattia e i tradizionali cicli chemioterapici non avevano alcuna possibilità di ottenerne la guarigione, i genitori optarono per il metodo Di Bella(MDB).

All'età di 4 mesi il bimbo, col tumore in progressione, ha iniziato il MDB:

- Solution of:
 - All-Trans-Retinoic Acid 0.5 g
 - Palmitate axerophthol 0.5 g
 - Beta carotene 2 g

- Alpha-tocopherol-acetate 1000 g

(one 2 ml teaspoonful of Solution every 3 hours) together with:

- Dihydrotychosterol (one drop in the teaspoon for each administration)
- Bromocriptine 2.5 mg tablets (1/4 of a tablet twice a day, morning and evening)
- Melatonin 12%, Adenosine 51%, Glycine 37% (one 5 mg vial diluted in water)
- Chondroitin sulfate (one 500 mg vial orally with the evening feed/meal)
- Cyclophosphamide 50 mg tablets (1/4 of a tablet with the main feed/meal)
- Somatostatin - 14 amino acids (one 0.25 mg vial injected slowly subcutaneously in the evening).

FOLLOW-UP AND OUTCOMES

07.05.1999 Ecografia: *“...sul versante interno alla radice della coscia si apprezza neoformazione ad eco-struttura solida disomogenea, con significativo flusso al suo interno, ovoidale, di diametro max. 41 mm. E diametro trasverso di 24mm. che si interpone tra il piano sottocutaneo dal quale risulta apparentemente separato da parete propria, e piano muscolare dal quale non appare chiaramente clivabile...”*

01.12.1999 Ecografia: *“...al controllo attuale la formazione patologica alla radice della coscia destra appare lievemente ridotta nelle dimensioni presentando diametro longitudinale di circa 35 mm. Invariate le sue caratteristiche ecostrutturali...”*

28.06.2000 Ecografia: *“...”...formazione di diametro max di 24 mm, disomogenea, nella loggia degli adduttori.”*



(Figure 1)



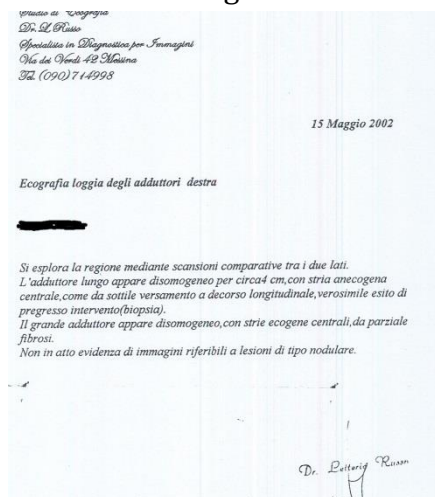
(Figure 2)

12.03.2001 Ecografia: *“...la formazione segnalata alla radice della coscia, nella loggia degli adduttori, presenta invariate caratteristiche eco-strutturali con riduzione del diametro longitudinale (18 mm. circa)...”*

09.11.2001 Ecografia: *“...la formazione già segnalata.....appare lievemente ridotta nelle sue dimensioni presentando diametro max di circa 12 mm.....”*

09.02.2002 - RM : *“...in comparazione con le precedenti indagini eseguite in data 1999 e 2000, non è più apprezzabile la formazione nodulare di tessuto patologico....in atto si apprezza solo una lieve atrofia dei ventri muscolari della loggia stessa rispetto ai controlaterali...”*

15.05.2002 Ecografia: “...non evidenza di immagini riferibili a lesioni di tipo nodulare..”



(Figure 3)

Successivamente, e fino alla data odierna, tutte le indagini strumentali effettuate dal paziente non hanno mostrato modificazioni strutturali.

L'impiego sinergico di Somatostatina, Melatonina, Retinoidi solubilizzati in Vitamina E, Vitamina C, D₃, con Calcio, Condroitinsolfato, microdosi di Ciclofosfamide, (MDB), ha prodotto una risposta obiettiva completa, e stabile oramai da 14 anni. Il MDB, senza necessità di ricovero, in assenza di tossicità, ha prima avuto un effetto citostatico e dopo 8 mesi ha progressivamente ridotto e poi eliminato la voluminosa massa tumorale consentendo una normale qualità di vita, e uno sviluppo psicofisico perfettamente regolare. Vengono discussi il razionale e i meccanismi d'azione molecolari della terapia, che esercita un effetto differenziante, immunomodulante, citostatico, pro-apoptotico, preservando ed esaltando, sia il trofismo e la funzionalità di organi e tessuti, che l'omeostasi immunitaria e antiblastica. Questo risultato è conforme ai positivi risultati già pubblicati sull'uso del MDB nelle malattie linfoproliferative, nei carcinomi polmonari al 3° e 4° stadio, nei carcinomi della mammella, e nei carcinomi degli epitelii aerodigestivi superiori.

DISCUSSION

La proliferazione cellulare è strettamente dipendente dalla Prolattina, dal GH, massimo induttore della crescita [De Souza et al., 1974(31); Di Bella L. et al., 1979(45); Di Bella L. et al 1981; Di Bella L. et al, 1997(59); Di Bella L et al., 1998(60); Lincoln et al., 1998(103); Friend et al, 2000(71); Barnett et al, 2003(7); Anthony et al, 2009(3);] e da molecole mitogene GH dipendenti, da esso positivamente regolate, come EGF, FGF, HGF, IGF1-2, NGF, PDGF, TGF, VEGF [Szepesházi et al, 1999(155); Murray et al, 2004(124); Sall et al, 2004(143); Hagemester et al, 2008(75); Di Bella G., 2010; Taslipinar et al, 2009(157)] oltre che da fattori di crescita prodotti dall'apparato gastrointestinale, come VIP, CCK, G [Kath et al, 2000(87)].

Numerosi studi indicano come gli ormoni pituitari GH e PRL, abbiano un ruolo cruciale nello sviluppo e nella progressione dei tumori umani. La loro espressione recettoriale è ubiquitaria [De Souza et al, 1974(31); Hooghe et al, 1998; Ben-Jonathan et al, 2002(11); Batra RK et al, 1997(9), Di Bella G et al 2010, Cameron et al 1979] con rapporto dose/dipendente tra l'espressione recettoriale del GH e i processi di induzione e progressione tumorale, rilevato

istochimicamente ed attraverso tecniche di Western Blot, Ibridazione in situ e qPCR . La documentazione di concentrazioni di GHR nettamente superiori nei tessuti tumorali rispetto a quelli fisiologici e peritumorali, ne conferma il potente ruolo mitogeno [Lincoln et al, 1998; Friend et al, 2000; Zeitler et al, 2000; Gruszka et al, 2001] Attualmente è in fase di studio la meccanica temporale di tale processo etiopatogenetico: tra le ipotesi più verosimili, sono stati suggeriti, in aggiunta all'increzione ipofisaria di GH e PRL, probabili meccanismi di segnalazione autocrina e/o paracrina, sulla base della rilevazione della produzione locale del GH , GHR,PRL PRLR e del IGF1 nei tessuti di molte varietà di neoplasie, tra cui tumori del sistema nervoso.

LA SOMATOSTATINA

L'impiego della somatostatina e analoghi, agendo sui maggiori oncogeni, trova indicazione razionale in ogni neoplasia [Pollak et al, 1997; Pawlikowski et al, 1998; Friend et al, 2000; Lachowicz et al, 2000; Friend et al, 2000; Schally et al., 2001; Massa et al, 2004; Arena et al, 2007(4); Guillermet-Guibert et al, 2007; Lee et al, 2008; Di Bella L. et al., 1979(45); Di Bella L. et al 1981; Di Bella L. et al, 1997(59), Verhoef et al, 2008; Vieira Neto et al 2008; Di Bella G., 2010]. L'asse PRL/GH/GF ha una determinata influenza sullo sviluppo biologico neoplastico, da ciò l'evidenza logica e razionale dell'impiego antitumorale sinergico e interattivo di antiprolattinemici agonisti di D2R con antagonisti biologici del GH, come Somatostatina e analoghi, che estendono la loro regolazione negativa a fattori di crescita altamente mitogeni, GH dipendenti, EGF [Watt HL et al 2008, Barrie R. et al 1993(8)], FGF [Bonneterre et al 1990(13)], e alle rispettive vie di segnalazione recettoriali, con conseguenti riflessi antiproliferativi, pro-apoptotici, differenzianti ed antiangiogenici, come IGF1-2. Gli IGF1 rispondono mitogenicamente a IGF e l'effetto soppressivo della SST e analoghi, sui livelli sierici di IGF1 è, sia diretto (attraverso l'inibizione del gene di IGF) che indiretto, mediante la soppressione del GH e pertanto della sua induzione epatica di IGF1. L'effetto antiproliferativo degli analoghi della somatostatina anche nei sarcomi, come in altre neoplasie si realizza pertanto anche attraverso meccanismi che coinvolgono la soppressione del sistema IGF.

In molti tumori, non neuroendocrini, è stata documentata un'espressione recettoriale per la Somatostatina [Moertel et al, 1994; Sestini et al, 1996; Kogner et al, 1997; Briganti et al, 1997; Van Eijck et al, 1998; Borgström et al, 1999(15); Friend et al, 2000; Albérini et al, 2000(1); Florio et al, 2000; Cattaneo et al, 2000; Steták et al, 2001; Orlando et al, 2001; Faggiano et al, 2008; Florio et al, 2008; Fusco et al, 2008; Kwekkeboom et al, 2008; Hubalewska-Dydejczyk et al, 2008; Ioannou et al, 2008; Khanna et al, 2008; Li et al, 2008; Watt HL et al 2008 Corleto et al, 2009; Edelman et al, 2009; Hassaneen et al, 2009; He et al, 2009; Laklai et al, 2009; Luboldt et al, 2009; Pisarek et al, 2009; Ruscica et al, 2010].

E' confermata inoltre un'espressione nettamente superiore di GH e GHR nei tessuti tumorali rispetto a quelli sani [Lincoln DT et al 1998] . L'ormone ipotalamico GHRH stimola la sintesi e il rilascio del GH dalla ghiandola ipofisaria ed il suo mRNA è stato trovato in concentrazione nettamente incrementate in un'ampia varietà di neoplasie rispetto ai tessuti sani. Diversi studi hanno dimostrato che gli analoghi della somatostatina antagonisti del GHRH attraversano inoltre senza difficoltà la barriera emato-encefalica [Jaeckle LB et al 2003] e, inibendo

l'incremento ipofisario di GH, hanno effetti antiproliferativi nelle neoplasie [Kovács M et al 2010].

Fino al momento in cui le cellule che costituiscono il primo aggregato tumorale di pochi millimetri non riescono a crearsi un proprio sistema di vasi sanguigni (angiogenesi neoplastica) esse crescono con estrema lentezza e sono destinate a non superare le dimensioni di qualche millimetro, rimanendo allo stadio di "cancro in situ". L'espansione tumorale avviene solo quando il tumore realizza l'angiogenesi, riesce cioè a costruirsi una rete di vasi sanguigni per assicurarsi l'apporto di sostanze nutritive e l'eliminazione di scorie metaboliche. La letteratura ha documentato che tutti i passaggi dell'angiogenesi e le molecole che ad essa sinergicamente concorrono (sia promotori dell'angiogenesi che fattori di crescita angiogenici) sono negativamente regolati dalla somatostatina e dai suoi analoghi e, anche se in misura minore, da tutti gli altri componenti del MDB. Se l'espansione neoplastica ha nell'angiogenesi un passaggio obbligato, e se l'angiogenesi è totalmente inibita dalla somatostatina, è ulteriormente chiarita e documentata la sua indicazione in tutti i tumori, in presenza o meno, di SSTR.

Anche le situazioni locali di anossia e acidosi favoriscono l'angiogenesi, e in buona parte sono corrette dal miglioramento degli scambi emotissutali indotto dai componenti differenzianti del MDB.

I fenomeni di angiogenesi e neoangiogenesi, condizioni necessarie della progressione neoplastica, così come la cascata dei monociti, il rilascio paracrino di interleukina 8 e il contributo dei fattori di crescita (il cui sinergismo è essenziale per l'angiogenesi stessa), come il VEGF, TGF, IGF1, FGF, HGF, PDGF, costituiscono specifici bersagli molecolari negativamente regolati da Somatostatina e analoghi [Albini A et al., 1999; Barrie R. et al., 1993; Cascinu S et al., 2001; Florio T et al., 2003; Jia WD et al., 2003; Turner HE et al., 2000; Vidal S et al., 2000; Watson JC et al., 2001; Wiedermann CJ et al., 1993]. L'inibizione dell'angiogenesi indotta dalla SST è sinergicamente potenziata da MLT [Lissoni P et al., 2001; Di Bella L et al., 1979; Di Bella L et al., 2006], Retinoidi [McMillan K et al., 1999; Kini AR et al., 2001; Majewski S et al., 1994], vitamina D3 [Kisker O et al., 2003; Mantell DJ et al., 2000], Vitamina E [Shklar G et al., 1996; Tang FY et al., 2001; Neuzil J et al., 2002], Vitamina C [Ashino H et al., 2003], inibitori prolattinici [Turner HE et al., 2000] e da componenti della matrice extracellulare [Liu Y et al., 2005; Ozerdem U et al., 2004]. Contemporaneamente, gli stessi effetti citostatici, antiproliferativi, antimetastatici della Somatostatina vengono sinergicamente incrementati dagli altri componenti del MDB.

Ampiamente documentata è anche l'attività inibitoria della SST su un altro potente fattore di crescita mitogeno, EGF, attraverso molteplici meccanismi:

- Blocco del signaling dose-dipendente (Inibizione della fosforilazione tirosinica) del EGFR [Mishima M. et al., 1999];
- Riduzione dell'espressione di EGFR e del suo ligando (EGF) nelle cellule tumorali ;
- Abbattimento della concentrazione plasmatica di EGF (Castro et al 2000).

La suddetta interferenza viene ulteriormente potenziata dalla concomitante somministrazione di MLT e Vitamina D3, la cui attività modulatoria nei confronti del fattore di crescita epidermico è ben nota [Ref.].

L'ESPRESSIONE RECETTORIALE DELLA SOMATOSTATINA NEI SARCOMI

In uno studio su sarcomi avanzati dei tessuti ossei, il 71% dei pazienti hanno avuto una scintigrafia positiva dimostrando l'espressione tumorale dei recettori della somatostatina sst2 in vivo (FRIEDBERG J W). Un altro studio (Giannakanas G.) ha evidenziato, in 12/13 casi un riscontro scintigrafico positivo per SSTR e sono state rilevate in 2 pazienti lesioni occulte. La tipizzazione istologica e i risultati della scintigrafia erano: fibrosarcoma (1/+1), rhabdomyosarcoma embriogenico (1/+1), leiomyosarcoma (3+/3), liposarcoma (2+/2), sarcoma uterini (2+/2), HIV- Kaposi sarcoma (1+/1), osteosarcoma (1+/1), condrosarcoma (1-/1) e sarcoma neurogeno. Casi di fibromatosi aggressiva e a rapida crescita hanno ottenuto benefici clinici protratti con isotopi radiomarcanti dell'octreotide (De Pas T).

LA MELATONINA

Si sta sempre più evidenziando anche nei sarcomi, come in genere nelle neoplasie, un ruolo antitumorale rilevante di uno dei componenti basilari del MDB, la melatonina.

La melatonina induce l'apoptosi nei sarcomi attraverso l'aumento dell'espressione di Fas e del suo ligando FasL. Il legame Fas/FasL attiva, all'interno della cellula bersaglio, la cascata enzimatica che porta all'apoptosi. La melatonina esercita un effetto citotossico sulle cellule tumorali mediante l'aumento transitorio in ossidanti intracellulari e agisce sul fattore di trascrizione nucleare, NF-kB, in senso apoptotico. Gli effetti citotossici e la regolazione Fas/FasL sono state osservate in tutte le linee del Sarcoma di Ewing studiate, e non nelle altre linee cellulari, dove la melatonina non induce la morte cellulare (García-Santos G et al 2012). La MLT si rivela pertanto, come affermato dal Prof Luigi Di Bella, un agente antitumorale a tossicità differenziale, danneggiando quindi le cellule tumorali e, contemporaneamente, svolgendo un ruolo favorevole su quelle sane.

(Casado-Zapico S) ha confermato il dato che la MLT svolge un ruolo citoprotettivo sulle cellule sane svolgendo un ruolo bifasico di tossicità differenziante su cellule tumorali. La MLT induce apoptosi attraverso la via estrinseca e citotossicità nelle cellule SK-N-MC nelle linee cellulari del sarcoma di Ewing. Svolge inoltre induzione apoptotica in sinergia con i chemioterapici, mediante attivazione delle caspasi 3 8 9.

L'espressione di MT1, nei sarcomi, è stata evidenziata in maniera rilevante, giustificata anche dal rilevante ruolo della Melatonina nel metabolismo osseo (Toma CD 2007).

Altri e numerosi studi (Roth J) confermano la capacità della MLT di indurre differenziazione degli osteoblasti, evidenziando come questo indolo pinealico svolga un ruolo essenziale nella regolazione della crescita ossea. La melatonina ha mostrato proprietà oncostatiche in un'ampia varietà di neoplasie. Fisiologicamente, i livelli di melatonina iniziano a diminuire prima della pubertà, e continuano a ridursi durante la fase puberale. Il dato potrebbe confermare una relazione intercorrente tra il tasso di crescita ossea e l'incidenza dell'osteosarcoma, che è stata trovata essere statisticamente più alta, per quanto riguarda le ossa lunghe delle gambe, nel gruppo osservazionale di 10-14 aa di età. E' altamente probabile pertanto che fattori concomitanti quali la riduzione di Melatonina (con riduzione della protezione oncostatica), ed il rilevante aumento del GH (e della crescita ossea durante la pubertà), possa causare la maggiore incidenza dell'osteosarcoma nelle fasi di massimo accrescimento osseo. La

melatonina sarebbe quindi da valorizzare, anche in combinazione con la chemioterapia, perché, priva di tossicità, ne potenzia l'azione antitumorale riducendone gli effetti collaterali, e può concorrere pertanto a migliorare la prognosi di questa malattia troppo spesso fatale. (Panzer A)

La MLT regola negativamente la crescita tumorale dipendente dall'acido linoleico bloccandone l'assorbimento. Nei leiomiomasarcomi è stata osservata una soppressione dose-dipendente della produzione tumorale di cAMP, dell'assorbimento del LA, del rilascio del 13-HODE, del ERK1/2, MEK e Akt e dell'incorporazione della timidina (Dauchy RT). Da un dosaggio della MLT epifisaria è emerso che nelle fasi iniziali e precoci dello sviluppo tumorale la quantità della melatonina aumenta con modificazione del profilo di produzione, svolgendo un ruolo attivo nell'omeostasi antitumorale, mentre se ne è osservato un calo della produzione negli stadi avanzati, contribuendo probabilmente alla cachessia (Ferreira AC).

L'insorgenza dell'osteosarcoma coincide con la riduzione nell'incremento di melatonina. Il declinare dei livelli della melatonina può pertanto favorire l'incidenza dell'osteosarcoma. La melatonina ha ridotto in modo significativo la proliferazione di cellule MG-63 di osteosarcoma in maniera dose e tempo dipendente, e ha aumentato in modo significativo la frazione di cellule in fase G0/G1 del ciclo cellulare, mentre ha ridotto in modo simultaneo la proporzione delle fasi S e G2/M attraverso la riduzione della ciclica D1, CDK4, ciclica B1 e CDK1 (Liu L)

Uno studio su 1400 pazienti (Lissoni P) ha evidenziato che la MLT previene la tossicità indotta dalla chemioterapia, potenziandone gli effetti antitumorali attraverso meccanismi biologici antiproliferativi, di stimolazione della immunità antitumorale, di regolazione negativa dell'espressione degli oncogeni, ed effetti anti ossidanti, antinfiammatori e anti-angiogenici e contenendo, negli stadi avanzati, cachessia, astenia e deficit trombopoietinici o linfocitopenici.

Il trattamento con la melatonina ha ripristinato le alterazioni nel metabolismo del glucosio e della glutammina evidenziate nelle neoplasie e ha stimolato la proliferazione dei linfociti. I risultati indicano che l'effetto della melatonina sulla crescita tumorale coinvolge la stimolazione del sistema immunitario e realizza l'omeostasi metabolica. È stato documentato (Martins E Jr) che l'uso della melatonina, in monoterapia o in combinazione con il ciclofosfamide, ha indotto una riduzione significativa dell'espressione del Bcl-2 in cellule del carcinoma sarcoma, con rilevante riduzione (93.61%) del volume tumorale (Ovsjanko EV).

RETINOIDI

(Camacho LH) I retinoidi regolano positivamente i geni oncosoppressori RAR-beta2 e si sono rivelati efficaci nel trattamento delle lesioni cutanee derivanti da Sarcoma di Kaposi e da linfoma a cellule T cutaneo. Come agenti chemiopreventivi, i retinoidi hanno dato prova di efficacia nella regressione della papillomatosi laringea e delle lesioni orali di leucoplachia. La capacità di prevenire malignità secondarie in pazienti con carcinoma di testa e collo è stata dimostrata ampiamente e gli effetti favorevoli differenzianti nei sarcomi (Cruz FD) sono stati confermati da numerosi autori , (Yang QJ, Al-Tahan A), che ne hanno evidenziato anche l'effetto citostatico, antiproliferativo, e documentato anche l'effetto citotossico apoptotico mediante la caspasi 9, non solo nei sarcomi , ma anche nelle cellule staminali mesenchimali

MSC in maniera tempo e dose-dipendente. I retinoidi aumentano l'espressione della proteina pro-apoptotica Bax, riducendo contemporaneamente l'espressione della proteina anti-apoptotica Bcl2 (Dozza B et al).

Tramite i loro recettori nucleari coniugati, esercitano potenti effetti sulla crescita cellulare, sulla differenziazione e sull'apoptosi e hanno significanti attività promettenti per la terapia antitumorale e per la chemioprevenzione (Siddikuzzaman et al). I retinoidi attivano geni che conferiscono resistenza agli inibitori della istone deacetilasi HDACI (Epping MB, Ramp U)

Non solo l'Ac Retinoico, ma anche i suoi metaboliti inibiscono la proliferazione e inducono induzione della differenziazione cellulare (He BG)

. La sovra-espressione di PPAR gamma, RARalfa, RXRalfa, anche in combinazione, inibisce la crescita tumorale e la proliferazione in vivo e ha dimostrato di promuovere la differenziazione osteogenica dell'osteosarcoma e delle cellule staminali mesenchimali.

LA VITAMINA D

L'impiego sinergico di Vit D e retinoidi ha evidenziato (Nozaki K), in linee cellulari di osteosarcoma, un effetto differenziante e antiproliferativo attraverso la regolazione negativa di interleukina 6 ed 8 (Masood R)

Altri studi hanno ottenuto, su linee di osteosarcoma trattate con Vit D, un effetto antiproliferativo, proapoptotico e antimetastatico dose dipendente. (Hara K) (Thompson L)

I trattamenti con gli inibitori della degradazione proteasomica (lactacistina) hanno stimolato selettivamente l'espressione di GFP-VDR e YFP-RXR e hanno anche aumentato i livelli endogeni di VDR e RXR. L'espressione di GFP-VDR non ha avuto alcun effetto sulla sensibilità delle cellule ROS al calcitriolo. Gli aumenti nei livelli RXR dall'espressione YFP-RXR, i trattamenti farmacologici, o la combinazione dei due, comunque, hanno ristabilito gli effetti inibitori della crescita del calcitriolo e dell'acido 9-cis retinoico e ha ristabilito la produzione di p21 dal calcitriolo (Prufer K)

E' stato documentato che il calcitriolo arresta la proliferazione e induce la differenziazione delle cellule osteoblastiche che hanno una rilevante increzione autocrina di HGF, che il calcitriolo stesso inibisce (Chattopadhyay N).

E' stato infine osservato che gli effetti antiproliferativi recettoriali della Vit. D si realizzano attraverso la riduzione della ciclina D1 e l'accumulo del p27 (Gonzales-Pardo V)

LA VITAMINA E

L'eccessiva formazione delle specie reattive dell'ossigeno, dovuto all'alterazione dei processi di ossidazione presenti in tessuti interessati da fibrosarcoma, e causa di danno alle limitrofe strutture di membrana, è efficacemente contrastata dalle proprietà chimico-fisiche dell'Alfatocoferolo, che contribuisce pertanto a costituire una prima barriera di difesa dall'estensione proliferativa.

E' stato rilevato un processo di involuzione timica, in linee cellulari di sarcoma, che induce apoptosi dei timociti e conseguente riduzione nella produzione di cellule T, a discapito dell'efficienza del sistema immunitario. La vit E, un potente antiossidante è stata somministrata oralmente per eliminare i ROS e valutare l'effetto contro l'apoptosi timica. Il recupero della funzionalità timiche e la riduzione dell'apoptosi dei timociti si sono ottenute

dopo 3 settimane di trattamento con vit E che ha normalizzato i livelli ROS realizzando così un effetto antitumorale mediante il recupero dell'omeostasi immunitaria. (Liu)

La ciclofosfamide, un agente alchilante attualmente usato per il trattamento di vari tipi di tumori, da solo o in combinazione con altri farmaci citostatici, ha un effetto di detrazione sul metabolismo lipidico e causa l'iperlipidemia in molti pazienti. L'alfa-tocoferolo è noto per le proprietà di riduzione della iperlipidemia e ne sono stati indagati quindi gli effetti in aggiunta al trattamento con ciclofosfamide. Lo studio, effettuato su topi con fibrosarcoma, ha dimostrato che l'alfa tocoferolo riduce marcatamente l'iperlipidemia indotta dal ciclofosfamide e riduce anche il metabolismo lipidico ai valori osservati in gruppi di controllo non trattati. (Ilanchezhian S)

La Vit E ha dimostrato di ridurre il danno da stress ossidativi, stimolato l'osteosclerosi e l'apoptosi tumorale, sia in vitro che in vivo (Badraoui)

CICLOFOSFAMIDE IN BASSI DOSAGGI

Un ulteriore contributo viene fornito dalla somministrazione giornaliera di basse dosi [50 mg/die per os] di Ciclofosfamide (Endoxan®). Questa posologia, oltre che ridurre drasticamente i noti effetti tossici/mielosoppressori del farmaco, induce un marcato viraggio dei suoi meccanismi d'azione mediante: innesco della cascata apoptotica mitocondrio dipendente, azione antiangiogenetica mediante l'abbattimento del VEGF.

LA VITAMINA C

La vit. C ha significativamente prevenuto l'induzione dei sarcomi nei topi, dimostrando pertanto una buona attività profilattica (Abdel Galil AM) e giocando un ruolo importante nella differenziazione degli osteoblasti (Sugimoto T)

Si sono verificati casi di remissione di sarcomi sottoposti ad alte dosi di vit C (Campbell A) e dimostrato che l'effetto citostatico di alte dosi di acido ascorbico viene realizzato attraverso l'inibizione del processo angiogenico (Yeom C H)

La vit C infine svolge azione antimetastatica attraverso l'inibizione della migrazione di cellule neoplastiche (Wybieralska E)

BIBLIOGRAFIA

1. Abdel-Galil AM. Oncology. 1986;43(5):335-7.Preventive effect of vitamin C (L-ascorbic acid) on methylcholanthrene-induced soft tissue sarcomas in mice.
2. Al-Tahan A1, Sarkis O, Harajly M, Baghdadi OK
Pediatr Blood Cancer. 2012 Jun;58(6):877-84. doi: 10.1002/pbc.23246. Epub 2011 Jul 13.Retinoic acid fails to induce cell cycle arrest with myogenic differentiation in rhabdomyosarcoma.

3. Alberini JL . Somatostatin receptor in breast cancer and axillary nodes: study with scintigraphy, histopathology and receptor autoradiography. *Breast Cancer Res Treat.* 2000; 61(1): 21–32.
4. Albin A, Florio T, Giunciuglio D, Masiello L, Carlone S, Corsaro A, et al. Somatostatin controls Kaposi's sarcoma tumor growth through inhibition of angiogenesis. *FASEB J.* 1999; 13(6): 647-655.
5. Anthony L, Freda PU. From somatostatin to octreotide LAR: evolution of a somatostatin analogue. *Curr Med Res Opin.* 2009 Dec; 25(12): 2989–99
6. Arena S, Pattarozzi A, Massa A. An intracellular multieffector complex mediates somatostatin receptor 1 activation of phospho-tyrosine phosphatase etc. *Mol Endocrinol.* 2007 Jan 21(1): 229-46.
7. Ashino H, Shimamura M, Nakajima H, Dombou M, Kawanaka S, Oikawa T, et al. Novel function of ascorbic acid as an angiostatic factor. *Angiogenesis.* 2003; 6(4): 259-269.
8. Barnett P. Somatostatin and somatostatin receptor physiology. *Endocrine.* 2003; 20(3): 255-264.
9. Barrie R, Woltering EA, Hajarizadeh H, Mueller C, Ure T, Fletcher WS. Inhibition of angiogenesis by somatostatin and somatostatin-like compounds is structurally dependent. *J Surg Res.* 1993; 55(4): 446-450.
10. Batra RK, Olsen JC, Hoganson DK, Caterson B, Boucher RC. Retroviral gene transfer is inhibited by chondroitin sulfate proteoglycans/glycosaminoglycans in malignant pleural effusions. *J Biol Chem.* 1997; 272(18): 11736-43.
11. Ben-Jonathan N, Liby K, McFarland M, Zinger M. Prolactin as an autocrine/paracrine growth factor in human cancer. *Trends Endocrinol Metab.* 2002; 13(6): 245-250.
12. Borgstrom P, Hassan M (1999). The somatostatin analogue octreotide inhibits neuroblastoma growth in vivo. *Pediatr Res.* 46(3): 328–32
13. Bonneterre J Biological and clinical aspects of prolactin receptors (PRL-R) in human breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1990 Dec 20; 37(6): 977–81.
14. Briganti V Imaging of somatostatin receptors by indium-111-pentetreotide correlates with quantitative determination of somatostatin receptor type 2 gene

- expression in neuroblastoma tumors. *Clin Cancer Res.* 1997 Dec; 3(12 Pt 1): 2385–91.
15. Buckley AR, Buckley DJ. Prolactin regulation of apoptosis-associated gene expression in T cells. *Ann NY Acad Sci.* 2000; 917:522–33. Review.
 16. Camacho LH Clinical applications of retinoids in cancer medicine. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2003 Jan-Mar;17(1):98-114. Review.
 17. Cameron E, Pauling L, Leibovitz B. Ascorbic acid and cancer: a review. *Cancer Res.* 1979; **39**(3): 663-681.
 18. Campbell A, Jack T, Cameron E. Reticulum cell sarcoma: two complete 'spontaneous' regressions, in response to high-dose ascorbic acid therapy. A report on subsequent progress. *Oncology.* 1991;48(6):495-7.
 19. Casado-Zapico S, Pineal Res. 2010 Jan;48(1):72-80. doi: 10.1111/j.1600-079X.2009.00727.x. bSynergistic antitumor effect of melatonin with several chemotherapeutic drugs on human Ewing sarcoma cancer cells: potentiation of the extrinsic apoptotic pathway.
 20. Cascinu S, Del Ferro E, Ligi M, Staccioli MP, Giordani P, Catalano V, et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor by octreotide in colorectal cancer patients. *Cancer Invest.* 2001; 19(1): 8-12
 21. Castro JR Expression of growth hormone receptor in the human brain *Neurosci Lett.* 2000 Mar 10;281(2-3):147-50.
 22. Cattaneo MG Somatostatin inhibits PDGF-stimulated Ras activation in human neuroblastoma cells. *FEBS Lett.* 1999 Oct 1; 459(1): 64–8.
 23. Chattopadhyay N, MacLeod RJ, Tfelt-Hansen J, Brown EM. 1 α ,25(OH) $_2$ -vitamin D $_3$ inhibits HGF synthesis and secretion from MG-63 human osteosarcoma cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003 Jan;284(1):E219-27. Epub 2002 Aug 27.
 24. Corleto VD Somatostatin receptor subtypes 2 and 5 are associated with better survival in well-differentiated endocrine carcinomas. *Neuroendocrinology.* 2009; 89(2): 223–30
 25. Cruz FD, Matushansky I. *Oncotarget.* 2012 May;3(5):559-67. Solid tumor differentiation therapy - is it possible? *Oncotarget.* 2012 May;3(5):559-67.
 26. Dauchy RT, Blask DE, Dauchy EM, Davidson LK, Tirrell PC, Greene MW, Tirrell RP, Hill CR, Sauer LA. *J Pineal Res.* 2009 Aug;47(1):32-42. doi: 10.1111/j.1600-079X.2009.00686.x. Epub 2009 May 27. Antineoplastic effects of melatonin on a rare malignancy of mesenchymal origin: melatonin receptor-

mediated inhibition of signal transduction, linoleic acid metabolism and growth in tissue-isolated human leiomyosarcoma xenografts.

27. De Pas T, Bodei L, Pelosi G, De Braud F, Villa G, Capanna R, Paganelli G; Italian Sarcoma Group Peptide receptor radiotherapy: a new option for the management of aggressive fibromatosis on behalf of the Italian Sarcoma Group.. Br J Cancer. 2003 Mar 10;88(5):645-7.
28. De Souza I, Morgan L, Lewis UL. Growth-hormone dependence among human breast cancers. Lancet. 1974; 2(7874): 182-184.
29. Di Bella G. The Di Bella Method (DBM). Neuro Endocrinol Lett. 2010;31 Suppl 1:1-42
30. Di Bella L, Rossi MT, Scalera G. Perspectives in pineal functions. Prog Brain Res. 1979; 52: 475-478.
31. Di Bella L et al. Somatostatin in cancer therapy. 2nd International Symposium of Somatostatin, 1981.
32. Di Bella L et al. Neurotropic action of melatonin. Satellite Meeting of International Society for Neurochemistry, 1981
33. Di Bella L et al. Molecular mechanism of bone marrow thrombocytopoiesis by melatonin. Second Colloquium of the European Study Group, 1981.
34. Di Bella L Melatonina dalla ricerca agli interventi – Atti del convegno Reggio Calabria 23/01/97.
35. Di Bella L. “Cancro: siamo sulla strada giusta?” Travel factory, 1998
36. Di Bella L et al. Cytocalasin B influence on megacaryocyte patch-clamp. Congresso Internazionale di Amburgo, 27 agosto 1998.
37. Di Bella L, Rossi MT, Scalera G. Perspectives in pineal functions. Prog Brain Res. 1979; 52: 475-478.
38. Di Bella L, Gualano L. Key aspects of melatonin physiology: thirty years of research. Neuro Endocrinol Lett. 2006; 27(4): 425-432.

39. Dozza B, Papi A, Lucarelli E, Scotlandi K, Pierini M, Tresca G, Donati D, Orlandi M. *Toxicol In Vitro*. 2012 Feb;26(1):142-9. doi: 10.1016/j.tiv.2011.10.009. Epub 2011 Oct 25. Cell growth inhibition and apoptotic effect of the rexinoid 6-OH-11-O-hydroxyphenantrene on human osteosarcoma and mesenchymal stem cells.
40. Edelman MJ Targeted radiopharmaceutical therapy for advanced lung cancer: phase I trial of rhenium Re188 P2045, a somatostatin analog. *J Thorac Oncol*. 2009 Dec; 4(12): 1550–4
41. Epping MT, Meijer LA, Bos JL, Bernardis RM *Mol Cancer Res*. 2009 Nov;7(11):1861-70. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-09-0187. Epub 2009 Oct 20. UNC45A confers resistance to histone deacetylase inhibitors and retinoic acid. Netherlands Cancer Institute, Division of Molecular Carcinogenesis, Amsterdam, the Netherlands.
42. Faggiano A Effect of treatment with depot somatostatin analogue octreotide on primary hyperparathyroidism (PHP) in multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) patients. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2008 Nov; 69(5): 756–62
43. Ferreira AC, Martins E Jr, Afeche SC, Cipolla-Neto J, Costa Rosa LF. *Life Sci*. 2004 Sep 24;75(19):2291-302. The profile of melatonin production in tumour-bearing rats.
44. Florio T, Thellung S, Arena S, Corsaro A, Bajetto A, Schettini G, Stork PJ. Somatostatin receptor 1 (SSTR1)-mediated inhibition of cell proliferation correlates with the activation of the MAP kinase cascade: role of the phosphotyrosine phosphatase SHP-2. *J Physiol Paris*. 2000 May-Aug;94(3-4):239-50. Review.
45. Florio T, Morini M, Villa V, Arena S, Corsaro A, Thellung S, et al. Somatostatin inhibits tumor angiogenesis and growth via somatostatin receptor-3-mediated regulation of endothelial nitric oxide synthase and mitogen-activated protein kinase activities. *Endocrinology*. 2003; 144(4): 1574-1584.
46. Florio T. Somatostatin/somatostatin receptor signalling: phosphotyrosine phosphatases. *Mol Cell Endocrinol*. 2008; 14 286(1-2): 40-8.

47. Friedberg JW1, Van den Abbeele Cancer. 1999 Oct 15;86(8):1621-7. Uptake of radiolabeled somatostatin analog is detectable in patients with metastatic foci of sarcoma.
48. Friend KE. Targeting the growth hormone axis as a therapeutic strategy in oncology. *Growth Horm IGF Res.* 2000; Suppl A: S45–6. Review.
49. Fusco A Somatostatinergic ligands in dopamine- sensitive and -resistant prolactinomas. *Eur J Endocrinol.* 2008 May; 158(5): 595–603.
50. García-Santos G, Martin V *Br J Cancer.* 2012 Mar 27;106(7):1288-96. doi: 10.1038/bjc.2012.66. Epub 2012 Mar 1. Fas/Fas ligand regulation mediates cell death in human Ewing's sarcoma cells treated with melatonin.
51. Giannakenas C, Kalofonos HP, Apostolopoulos D, Petsas T, Kalogeropoulou C, Tzorakelefterakis E, Skopa CD, Vassilakos PJ. Scintigraphic imaging of sarcomatous tumors with [(111)In-DTPA-phe-1]-octreotide. *Oncology.* 2000;58(1):18-24. Department of Nuclear Medicine, Regional University Hospital of Patras, Rion - Patras, Greece. cgian@med.upatras.gr
52. González-Pardo V1, Verstuyf A, Boland R, Russo de Boland A. *Br J Pharmacol.* 2013 Aug;169(7):1635-45. doi: 10.1111/bph.12219. Vitamin D analogue TX 527 down-regulates the NF- κ B pathway and controls the proliferation of endothelial cells transformed by Kaposi sarcoma herpesvirus.
53. Gruszka A, Pawlikowski M, Kunert-Radek J. Anti-tumoral action of octreotide and bromocriptine on the experimental rat prolactinoma: anti-proliferative and pro-apoptotic effects. *Neuroendocrinol Lett.* 2001; **22**(5): 343-348.
54. Guillermet-Guibert J, Saint-Laurent N, Davenne L. Novel synergistic mechanism for sst2 somatostatin and TNF α receptors to induce apoptosis: crosstalk between NF-kappaB and JNK pathways. *Cell Death Differ.* 2007; 14(2): 197-208.

55. Hagemeister AL, Sheridan MA. Somatostatin inhibits hepatic growth hormone receptor and insulin-like growth factor I mRNA expression by activating the ERK and PI3K signalling pathways. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008; 295(2):R490. Kath R, Höffken K. The significance of somatostatin analogues in the antiproliferative treatment of carcinomas. *Recent Results Cancer Res*. 2000; **153**: 23-43.
56. Hara K, Kusuzaki K, Takeshita H, Kuzuhara A, Tsuji Y, Ashihara T, Hirasawa Y.
Oral administration of 1 alpha hydroxyvitamin D3 inhibits tumor growth and metastasis of a murine osteosarcoma model.
57. Hassaneen W Immunohistochemical detection of somatostatin receptor subtype 5 (SSTR-5) in cushing adenoma. *J Neurooncol*. 2009 Nov 6
58. He BG, Lin LZ, Zhang PG, Huang MG, Zeng QT.[Skin flaps for repairing hands with severe burn and compression injuries in the hand].
Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao. 2003 Aug;23(8):784-5. Chinese.
59. He Y The antiproliferative effects of somatostatin receptor subtype 2 in breast cancer cells. *Acta Pharmacol Sin*. 2009 Jul; 30(7): 1053–9.
60. Hooghe R, Merchav S, Gaidano G, A role for growth hormone and prolactin in leukaemia and lymphoma? *Cell Mol Life Sci*. 1998; **54**(10): 1095-1101.
61. Hubalewska-Dydejczyk A Somatostatin receptors expression (SSTR1-SSTR5) in pheochromocytomas *Przegl Lek*. 2008; 65(9): 405–7. Review.
62. Ioannou M Detection of somatostatin receptors in human osteosarcoma. *World J Surg Oncol*. 2008 Sep 10; 6: 99Khanna G Utility of radiolabeled somatostatin receptor analogues for staging/restaging and treatment of somatostatin receptor-positive pediatric tumors. *Oncologist*. 2008 Apr; 13(4): 382–9
63. Jaeckle KA, Hess KR, YungWK, Phase II evaluation of temozolomide and 13-cis-retinoic acid for the treatment of recurrent and progressively malignant glioma: a North American Brain Tumor Consortium study. *J Clin Oncol*. 2003 Jun 15;21(12):2305-11.
64. Jia WD, Xu GL, Xu RN, Sun HC, Wang L, Yu JH, et al. Octreotide acts as an antitumor angiogenesis compound and suppresses tumor growth in nude mice bearing human hepatocellular carcinoma xenografts. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2003; 129(6): 327-334.

65. Kini AR, Peterson LA, Tallman MS, Lingen MW. Angiogenesis in acute promyelocytic leukemia: induction by vascular endothelial growth factor and inhibition by all-trans retinoic acid. *Blood*. 2001; 97(12): 3919-3924
66. Kisker O, Onizuka S, Becker CM, Fannon M, Flynn E, D'Amato R, et al. Vitamin D binding protein-macrophage activating factor (DBP-maf) inhibits angiogenesis and tumor growth in mice. *Neoplasia*. 2003; 5(1): 32-40.
67. Kogner P Somatostatin in neuroblastoma and ganglioneuroma. *Eur J Cancer*. 1997 Oct; 33(12): 2084-9.
68. Kovács M A correlation of endocrine and anticancer effects of some antagonists of GHRH. *Peptides*. 2010 Oct;31(10):1839-46. doi: 10.1016/j.peptides.2010.07.006. Epub 2010 Jul 13. Select item 20633588
69. Kwekkeboom DJ Treatment with the radiolabeled somatostatin analog (177 Lu-DOTA 0,Tyr3)octreotate: toxicity, efficacy, and survival. *J Clin Oncol*. 2008 May 1; B 26(13): 2124-30.
70. Lachowicz-Ochedalska A Effects of somatostatin and its analogues on tyrosine kinase activity in rodent tumors. *Biol Signals Recept*. 2000 Sep-Oct; 9(5): 255-9Lincoln DT, Sinowatz F, Temmim-Baker L, et al. Growth hormone receptor expression in the nucleus and cytoplasm of normal and neoplastic cells. *Histochem Cell Biol*. 1998; **109**(2): 141-159
71. Laklai H Thrombospondin-1 is a critical effector of oncosuppressive activity of sst2 somatostatin receptor on pancreatic cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Oct 20; 106(42): 17769-74.
72. Lee LT, Schally AV, Liebow C. Dephosphorylation of cancer protein by tyrosine phosphatases in response to analogs of luteinizing hormone-releasing hormone and somatostatin. *Anticancer Res*. 2008; 28(5A): 2599-605.
73. Li M, Wang X, Li W, Li F, Yang H, Wang H, Brunicardi FC, Chen C, Yao Q, Fisher WE. Somatostatin receptor-1 induces cell cycle arrest and inhibits tumor

growth in pancreatic cancer. *Cancer Sci.* 2008 Nov;99(11):2218-23. doi: 10.1111/j.1349-7006.2008.00940.x. Epub 2008 Sep 22.

74. Lincoln DT, Sinowatz F, Temmim-Baker L, et al. Growth hormone receptor expression in the nucleus and cytoplasm of normal and neoplastic cells. *Histochem Cell Biol.* 1998; **109**(2): 141-159
75. Liu L, Xu Y, Reiter RJ. *Bone.* 2013 Mar 5. pii: S8756-3282(13)00093-8. doi: 10.1016/j.bone.2013.02.021. [Epub ahead of print] Melatonin inhibits the proliferation of human osteosarcoma cell line MG-63.
76. Liu Y, Yang H, Otaka K, Takatsuki H, Sakanishi A. Effects of vascular endothelial growth factor (VEGF) and chondroitin sulfate A on human monocytic THP-1 cell migration. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2005; 43(3-4): 216-220.
77. Lissoni P. Support Care Cancer. 2002 Mar;10(2):110-6. Epub 2001 Nov 13. Is there a role for melatonin in supportive care?
78. Lissoni P, *Eur J Cancer Clin Oncol.* 1987 Jul;23(7):949-57. The clinical significance of melatonin serum determination in oncological patients and its correlations with GH and PRL blood levels.
79. Luboldt W Visualization of Somatostatin Receptors in Prostate Cancer and its Bone Metastases with Ga-68-DOTATOC PET/CT. *Mol Imaging Biol.* 2009 May
80. Majewski S, Szmurlo A, Marczak M, Jablonska S, Bollag W. Synergistic effect of retinoids and interferon alpha on tumor-induced angiogenesis: anti-angiogenic effect on HPV-harboring tumor-cell lines. *Int J Cancer.* 1994; 57(1): 81-85.
81. Mantell DJ, Owens PE, Bundred NJ, Mawer EB, Canfield AE. 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D(3) inhibits angiogenesis in vitro and in vivo. *Circ Res.* 2000; 87(3): 214-220.
82. Masood R1, Nagpal S, Zheng T, Cai J, Tulpule A, Smith DL, Gill PS. *Blood.* 2000 Nov 1;96(9):3188-94. Kaposi sarcoma is a therapeutic target for vitamin D(3) receptor agonist.
83. Martins E Jr, Fernandes LC, Bartol I, Cipolla-Neto J, Costa Rosa LF. Department of Physiology and Biophysics, Biomedical Sciences Institute, University of São Paulo, SP, Brazil. eivor@bmb.icb1.usp.br

84. Massa A The expression of the phosphotyrosine phosphatase DEP-1/PTPeta dictates the responsivity of glioma cells to somatostatin inhibition of cell proliferation. *J Biol Chem.* 2004 Jul 9; 279(28): 29004–12.
85. McMillan K, Perepelitsyn I, Wang Z, Shapshay SM. Tumor growth inhibition and regression induced by photothermal vascular targeting and angiogenesis inhibitor retinoic acid. *Cancer Lett.* 1999; 137(1): 35-44.
86. Mishima M, Yano T, Jimbo H, Yano N, Morita Y, Yoshikawa H, et al. Inhibition of human endometrial cancer cell growth in vitro and in vivo by somatostatin analog RC-160. *Am J Obstet Gynecol.* 1999; 181(3): 583-590.
87. Moertel CL Expression of somatostatin receptors in childhood neuroblastoma. *Am J Clin Pathol.* 1994 Dec; 102(6): 752–6.
88. Murray RD, Kim K, Ren SG. Central and peripheral actions of somatostatin on the growth hormone-IGF-I axis. *J Clin Invest.* 2004; 114(3): 349-56.
89. Neuzil J, Kagedal K, Andera L, Weber C, Brunk UT. Vitamin E analogs: a new class of multiple action agents with anti-neoplastic and anti-atherogenic activity. *Apoptosis.* 2002; 7(2): 179-87
90. Nozaki K, Kadosawa T, Nishimura R, Mochizuki M, Takahashi K, Sasaki N. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃, recombinant human transforming growth factor-beta 1, and recombinant human bone morphogenetic protein-2 induce in vitro differentiation of canine osteosarcoma cells. *J Vet Med Sci.* 1999 Jun;61(6):649-56.
91. Orlando C Somatostatin receptor type gene expression in neuroblastoma, measured by competitive RT-PCR, is related to patient survival and to somatostatin receptor imaging by indium -111-pentetreotide. *Med Pediatr Oncol.* 2001 Jan; 36(1): 224–6.
92. Ovsjanko EV, Lushnikova EL, Larionov PM, Arkhipov SA, Nepomnyashchikh LM, Efremov AV, Ovsjanko YU. *Bull Exp Biol Med.* 2009 Oct;148(4):650-5. Immunohistochemical study for the expression of Bcl-2 family proteins in Walker 256 carcinosarcoma cells under the influence of cytostatic drugs.
93. Ozerdem U, Stallcup WB. Pathological angiogenesis is reduced by targeting pericytes via the NG2 proteoglycan. *Angiogenesis.* 2004; 7(3): 269-276.
- 94.

95. Panzer A. Med Hypotheses. 1997 Jun;48(6):523-5. Melatonin in osteosarcoma: an effective drug?
96. Pawlikowski M, Lachowicz L, Kunert-Radek J. Differential effects of somatostatin and its analog on protein tyrosine kinases activity in the rat pituitary and the murine colonic tumors. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998; 246(2): 375-7.7
97. Pisarek H Expression of somatostatin receptor subtypes in human pituitary adenomas-- immunohistochemical studies. *Endokrynol Pol*. 2009 Jul–Aug; 60(4): 240–51.
98. Pollak M. The potential role of somatostatin analogues in breast cancer treatment. *Yale J Biol Med*. 1997; 70(5-6): 535-539.
99. Prüfer K, Schröder C, Hegyi K, Barsony J. Degradation of RXRs influences sensitivity of rat osteosarcoma cells to the antiproliferative effects of calcitriol. *Mol Endocrinol*. 2002 May;16(5):961-76.
100. Ramp U, Gerharz CD, Engers R, Marx N, Gabbert HE. Differentiation induction in the human rhabdomyosarcoma cell line TE-671. A morphological, biochemical and molecular analysis. *Anticancer Res*. 1995 Jan-Feb;15(1):181-8.
101. Roth JA, Kim BG, Lin WL, Cho MI. *J Biol Chem*. 1999 Jul 30;274(31):22041-7. Melatonin promotes osteoblast differentiation and bone formation.
102. Ruscica M Regulation of prostate cancer cell proliferation by somatostatin receptor activation. *Mol Cell Endocrinol*. 2010 Feb 5; 315(1–2): 254–62.
103. Sall JW, Klisovic DD, O' Dorisio MS. Somatostatin inhibits IGF-1 mediated induction of VEGF in human retinal pigment epithelial cells. *Exp Eye Res*. 2004; 79(4): 465-76
104. Schally AV, Comaru-Schally AM, Nagy A, Kovacs M, Szepeshazi K, Plonowski A, et al. Hypothalamic hormones and cancer. *Front Neuroendocrinol*. 2001; 22(4): 248-291
105. Sestini R Quantitation of somatostatin receptor type 2 gene expression in neuroblastoma cell lines and primary tumors using competitive reverse

- transcription-polymerase chain reaction. *Clin Cancer Res.* 1996 Oct; 2(10): 1757–65.
106. Shklar G, Schwartz JL. Vitamin E inhibits experimental carcinogenesis and tumour angiogenesis. *Eur J Cancer B Oral Oncol.* 1996; 32B(2): 114-119.
107. Siddikuzzaman, Guruvayoorappan C, Berlin Grace VM. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2011 Jun;33(2):241-9. doi: 10.3109/08923973.2010.521507. Epub 2010 Oct 8. All trans retinoic acid and cancer.
108. Stetak A The antitumor somatostatin analogue TT-232 induces cell cycle arrest through PKCdelta and c-Src. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001 Jul 13; 285(2): 483– 8.
109. Sugimoto T, Nakada M, Fukase M, Imai Y, Kinoshita Y, Fujita T. Effects of ascorbic acid on alkaline phosphatase activity and hormone responsiveness in the osteoblastic osteosarcoma cell line UMR-106. *Calcif Tissue Int.* 1986 Sep;39(3):171-4.
110. Szepesházi K, Halmos G, Schally AV, Arencibia JM, Groot K, Vadillo-Buenfil M, et al. Growth inhibition of experimental pancreatic cancers and sustained reduction in epidermal growth factor receptors during therapy with hormonal peptide analogs. *J Cancer Res Clin Oncol.* 1999 Aug-Sep;125(8-9):444-52
111. Tang FY, Meydani M. Green tea catechins and vitamin E inhibit angiogenesis of human microvascular endothelial cells through suppression of IL-8 production. *Nutr Cancer.* 2001; 41(1-2): 119-125
112. Taslipinar A Insulin-like growth factor-1 is essential to the increased mortality caused by excess growth hormone: a case of thyroid cancer and non-Hodgkin's lymphoma in a patient with pituitary acromegaly. *Med Oncol.* 2009; 26(1): 62–6
113. Thompson L, Wang S, Tawfik O, Templeton K, Tancabelic J, Pinson D, Anderson HC, Keighley J, Garimella R. Effect of 25-hydroxyvitamin D3 and 1 α ,25 dihydroxyvitamin D3 on differentiation and apoptosis of human osteosarcoma cell lines. *J Orthop Res.* 2012 May;30(5):831-44. doi: 10.1002/jor.21585. Epub 2011 Oct 31.

114. Toma CD, Svoboda M, Arrich F, Ekmekcioglu C, Assadian O, Thalhammer T., J Pineal Res. 2007 Sep;43(2):206-13. Expression of the melatonin receptor (MT) 1 in benign and malignant human bone tumors.
115. Turner HE, Nagy Z, Gatter KC, Esiri MM, Harris AL, Wass JA. Angiogenesis in pituitary adenomas - relationship to endocrine function, treatment and outcome. J Endocrinol. 2000; 165(2): 475-481.
116. Van Eijck CH, Kwekkboom DJ, Krenning EP. Somatostatin receptors and breast cancer. Q J Nucl Med. 1998; 42(1): 18-25.
117. Verhoef C Somatostatin receptor in human hepatocellular carcinomas: biological, patient and tumor characteristics. Dig Surg. 2008; 25(1): 21–6.
118. Vidal S, Oliveira MC, Kovacs K, Scheithauer BW, Lloyd R. Immunolocalization of vascular endothelial growth factor in the GH3 cell line. Cell Tissue Res. 2000; 300(1): 83-88.
119. Vieira Neto L . Somatostatin receptors subtypes 2 and 5, dopamine receptor type 2 expression and gsp status as predictors of octreotide LAR responsiveness in acromegaly. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2008 Nov; 52(8): 1288–95.
120. Watson JC, Balster DA, Gebhardt BM, O'Dorisio TM, O'Dorisio MS, Espenan GD, et al. Growing vascular endothelial cells express somatostatin subtype 2 receptors. Br J Cancer. 2001; 85(2): 266-272.
121. Watt HL Biology of somatostatin in breast cancer. Mol Cell Endocrinol. 2008 May 14; 286(1-2): 251-61.
122. Wiedermann CJ, Reinisch N, Braunsteiner H. Stimulation of monocyte chemotaxis by human growth hormone and its deactivation by somatostatin. Blood. 1993; 82(3): 954-960.
123. Wybieralska E1, Koza M, Sroka J, Czyz J, Madeja Z. Ascorbic acid inhibits the migration of Walker 256 carcinosarcoma cells.
124. Yang QJ, Zhou LY, Mu YQ, Zhou QX, Luo JY, Cheng L, Deng ZL, He TC, Haydon RC, He BC. Int J Oncol. 2012 Jul;41(1):153-60. doi:

10.3892/ijo.2012.1426. Epub 2012 Apr 3. All-trans retinoic acid inhibits tumor growth of human osteosarcoma by activating Smad signaling-induced osteogenic differentiation

125. Yeom CH, Lee G, Park JH, Yu J, Park S, Yi SY, Lee HR, Hong YS, Yang J, Lee S. High dose concentration administration of ascorbic acid inhibits tumor growth in BALB/C mice implanted with sarcoma 180 cancer cells via the restriction of angiogenesis. *J Transl Med.* 2009 Aug 11;7:70. doi: 10.1186/1479-5876-7-70.

Cell Mol Biol Lett. 2008;13(1):103-11. Epub 2007 Oct 29.

126. Zeitler P, Siriwardana G. Stimulation of mitogen-activated protein kinase pathway in rat somatotrophs by growth hormone-releasing hormone. *Endocrine.* 2000; 12(3): 257-64.