

Análisis estructural del efecto de melatonina en glándula submandibular de ratas tratadas con ciclofosfamida

Structural analysis of the effect of melatonin on the submandibular gland of rats treated with cyclophosphamide

Análise estrutural do efeito da melatonina na glândula submandibular de ratos tratados com ciclofosfamida

Fecha de Recepción: 01 noviembre 2025

Aceptado para su publicación: 25 noviembre 2025

Autores:

Fernando Martín Wietz^{1,a}

ORCID: 0000-0001-8895-9424

Evelin Bachmeier^{2,b}

ORCID: 0000-0001-5900-8603

Ismael Bernardo Fonseca Acosta^{2,c}

ORCID: 0000-0001-8658-5131

Rodolfo Esteban Ávila Uliarte^{1,c}

ORCID: 0000-0001-8857-2406

María Elena Samar Romani^{1,c}

ORCID: 0000-0002-6093-3297

Marcelo Adrián Mazzeo^{1,b}

ORCID: 0000-0002-7950-613X

1. Cátedra de Fisiología Humana. Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba, República Argentina

2. II Cátedra de Patología. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba, República Argentina

a. Odontólogo (Facultad de Odontología, UNC, RA)

b. Doctor/ra en Odontología (Facultad de Odontología, UNC, RA)

c. Doctor/ra en Medicina (Facultad de Ciencias Médicas, UNC, RA)

Correspondencia:

Wietz, Fernando Martín

Cátedra de Fisiología Humana. Calle Enfermera Gordillo Gómez S/N. Ciudad Universitaria (CP: 5000) Ciudad de Córdoba, Argentina Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba, República Argentina.

Correo electrónico:

fernando.wietz@unc.edu.ar

Conflicto de intereses:

los autores declaran no tener conflictos de interés.

Fuente de financiamiento:

Secretaría de Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional de Córdoba (SeCyT-UNC). Proyecto de investigación "Consolidar".

Resumen

Ciclofosfamida es un citostático utilizado en esquemas de acondicionamiento para trasplante de médula ósea y en algunos tumores sólidos. Tiene capacidad para provocar alteraciones en varios sistemas orgánicos entre los que se destaca el sistema estomatognático. Trabajos previos de nuestro equipo demostraron un efecto oxidativo y funcional de esta droga evaluado a través del incremento de superóxido dismutasa, ácido úrico y niveles de glucógeno en glándula submandibular de rata. Por otro lado, se conoce la acción de melatonina como agente multipropósito por su capacidad de atenuar alteraciones en la estructura y función de varios órganos con alta tasa de actividad funcional y mitosis. En el presente trabajo evaluamos cambios histológicos en conductos y acinos de glándula submandibular de ratas tratadas con ciclofosfamida, así como el efecto protector de melatonina administrada por vía exógena. Se utilizaron ratas macho Wistar adultas de tres meses de edad con peso corporal de 300 a 350 gramos, divididas en cinco grupos experimentales: 1) C: Control, 2) Control y Etanol, 3) Ciclofosfamida, 4) Ciclofosfamida y Melatonina y 5) Melatonina. Se realizaron cortes histológicos de glándulas submandibulares y tinción con Hematoxilina/Eosina, donde se analizaron posibles cambios estructurales en conductos y acinos. Las glándulas de los animales tratados con ciclofosfamida mostraron células acinares con macrocariosis e hiper Cromasia, binucleación con contornos irregulares, nucléolo bien evidente y grumos de cromatina perinuclear, respecto de los grupos controles. Se infiere que la administración de melatonina en la dosis ensayada podría atenuar las alteraciones estructurales de la glándula submandibular tratada con este agente quimioterapéutico. La reversión de tales cambios explicaría la reducción de efectos antioxidantes y funcionales a nivel glandular descriptos en nuestro laboratorio.

Palabras clave: ciclofosfamida; melatonina; glándula submandibular; ratas Wistar (fuente: DeCS BIREME).

Abstract

Cyclophosphamide is a cytostatic agent used in conditioning regimens for bone marrow transplantation and in some solid tumors. It has the capacity to induce alterations in several organ systems, particularly the stomatognathic system. Previous studies by our team demonstrated an oxidative and functional effect of this drug, assessed through increased superoxide dismutase, uric acid, and glycogen levels in rat submandibular gland. On the other hand, melatonin is known for its multipurpose action due to its capacity to attenuate structural and functional alterations in several organs with high functional activity and mitotic rates. In the present study, we evaluated histological changes in ducts and acini of the submandibular gland of rats treated with cyclophosphamide, as well as the protective effect of exogenously administered melatonin. Three-month-old adult male Wistar rats with body weight ranging from 300 to 350 grams, were used and divided into five experimental groups: 1) C: Control, 2) Control and Ethanol, 3) Cyclophosphamide, 4) Cyclophosphamide and Melatonin, and 5) Melatonin. Histological sections of submandibular glands were prepared and stained with Hematoxylin/Eosin, where possible structural changes in ducts and acini were analyzed. Glands from animals treated with cyclophosphamide showed acinar cells with macrokaryosis and hyperchromasia, binucleation with irregular contours, prominent nucleoli, and perinuclear chromatin clumps compared to control groups. It is inferred that melatonin administration at the tested dose could attenuate the structural alterations of the submandibular gland treated with this chemotherapeutic agent. The reversal of such changes would explain the reduction of antioxidant and functional effects at the glandular level described in our laboratory.

Key words: cyclophosphamide; melatonin; submandibular gland; Wistar rats (source: MeSH NLM).

Resumo

A ciclofosfamida é um citostático utilizado em esquemas de condicionamento para transplante de medula óssea e em alguns tumores sólidos. Tem capacidade de provocar alterações em vários sistemas orgânicos, destacando-se o sistema estomatognático. Estudos pré-

vios de nosso grupo demonstraram um efeito oxidativo e funcional desse fármaco, avaliado pelo aumento da superóxido dismutase, do ácido úrico e dos níveis de glicogênio na glândula submandibular de ratos. Por outro lado, a ação da melatonina é conhecida como agente multipropósito por sua capacidade de atenuar alterações na estrutura e função de vários órgãos com alta taxa de atividade funcional e mitose. No presente estudo, avaliamos alterações histológicas nos ductos e ácinos da glândula submandibular de ratos tratados com ciclofosfamida, bem como o efeito protetor da melatonina administrada por via exógena. Utilizaram-se ratos Wistar machos adultos com três meses de idade e peso corporal de 300 a 350 gramas, divididos em cinco grupos experimentais: 1) C: Controle, 2) Controle e Etanol, 3) Ciclofosfamida, 4) Ciclofosfamida e Melatonina e 5) Melatonina. Foram realizados cortes histológicos das glândulas submandibulares com coloração Hematoxilina/Eosina, analisando-se possíveis alterações estruturais em ductos e ácinos. As glândulas dos animais tratados com ciclofosfamida apresentaram células acinares com macrocariose e hiperchromasia, binucleação com contornos irregulares, nucléolo proeminente e grumos de cromatina perinuclear, quando comparadas aos grupos controle. Infere-se que a administração de melatonina na dose testada poderia atenuar as alterações estruturais da glândula submandibular tratada com este agente quimioterapêutico. A reversão de tais alterações explicaria a redução dos efeitos antioxidantes e funcionais em nível glandular descritos por nosso laboratório.

Palavras-chave: ciclofosfamida; melatonina; glândula submandibular; ratos Wistar (fonte: DeCS BIREME).

Introducción

La administración de drogas oncológicas en tratamientos por cáncer tiene la capacidad de afectar, además de las células tumorales, a los órganos y tejidos con alta tasa de actividad funcional y mitosis como la cavidad oral, siendo las glándulas salivales una de las estructuras más comúnmente involucradas. Esto altera la homeostasis del sistema estomatognático, provocando una reducción de la calidad de vida de los pacientes sometidos a tratamiento oncológico específico.

Nuestro laboratorio informó oportunamente alteraciones funcionales en la glándula submandibular de ratas tratadas por acción de ciclofosfamida,

agente quimioterapéutico comúnmente utilizado en tumores sólidos y en terapias de acondicionamiento para trasplantes¹.

Varios investigadores evaluaron posibles alternativas terapéuticas para minimizar los efectos adversos de las drogas oncológicas como la ciclofosfamida que, dado su alcance no selectivo, puede alterar diversos sistemas orgánicos con estructura y funcionalidad normal. Algunos estudios reportaron el rol de la melatonina como un agente con capacidad para revertir tales efectos. Melatonina ha sido identificada inicialmente como una hormona que, desde el punto de vista bioquímico deriva del triptófano. Este último, se encuentra en la circulación sistémica el cual, por un mecanismo de oxidación y descarboxilación se convierte en serotonina sobre la que actúa la enzima N-acetil transferasa que aumenta durante el período de oscuridad transformándose finalmente en melatonina².

Entre sus múltiples funciones se describen las neuroendocrinas asociadas a la reproducción, al ritmo circadiano de sueño/vigilia, moduladora del sistema inmunitario, como reguladora de la función mitocondrial para la producción de ATP, además de ser considerada como un potente antiinflamatorio³.

Desde el punto de vista filogenético, el cerramiento del cráneo en los mamíferos favoreció un mecanismo complejo de adaptación multisináptico, permitiendo de este modo llevar señales desde la retina hasta la glándula pineal para la producción nocturna de melatonina, alcanzando su máxima secreción durante la madrugada^{4,5}.

Una vez producida la melatonina, pasa a la circulación cerebral y sistémica. Su vida media es de treinta minutos en plasma. Circula principalmente asociada a albúmina en un 70%, mientras que el 30% restante lo hace en forma libre, pasando a saliva cuya correlación sería similar a la del plasma. Se metaboliza en hígado y se elimina por orina en forma de 6-sulfatoeximelatonina. A partir de los 40 años, comienza a reducirse la síntesis de melatonina hasta un 40%, situación asociada a los procesos de envejecimiento^{6,7}.

Además de la glándula pineal, otros órganos tienen capacidad para sintetizarla como la retina, células del sistema inmune, intestino, médula ósea, ovario, testículo, cerebro, hígado y corazón entre otros. No obstante, a diferencia de la que se produce a nivel de la glándula pineal, la melatonina formada en estos órganos no sale a la circulación, sino que es utilizada con fines protectores en el órgano o tejido que la produce⁸.

Varios autores demostraron la presencia de melatonina en las glándulas salivales mayores tanto en muestras biológicas obtenidas de humanos como en ratas. Anteriormente se creía que la melatonina pasaba por difusión pasiva desde el plasma a las glándulas salivales. Actualmente se ha identificado por inmunohistoquímica que las mismas glándulas salivales al igual que otros tejidos y órganos tienen potencial para sintetizar y secretar su propia melatonina⁹⁻¹¹.

En base a estos antecedentes planteamos como hipótesis que la administración exógena de melatonina, sumada a la batería de antioxidantes producidos por el propio organismo tendrían capacidad para minimizar los efectos adversos a nivel estructural ocasionado por la administración de ciclofosfamida.

En consecuencia, resulta de especial interés investigar su comportamiento en un modelo animal como "antioxidante multipropósito", revirtiendo el daño en los acinos de la glándula submandibular producido por acción de ciclofosfamida.

Materiales y Métodos

Se utilizaron 40 ratas macho adultas cepa Wistar de tres meses de edad, con un peso corporal de 300/350 gramos, ubicadas en jaulas individuales con agua y comida ad libitum y mantenidas bajo ciclos de luz/oscuridad de doce horas.

Grupos experimentales

1) *Grupo Control (C)* (n: 8) recibió bebida y alimentación ad libitum (sin administración de melatonina y ciclofosfamida) durante 12 días consecutivos.

2) *Grupo Control Etanol (E)* (n: 8) tratado con etanol al 1% durante 10 días consecutivos. Los días 11

y 12 se les administró además una dosis de solución salina. El vehículo para la dilución de melatonina es el etanol al 1%. Justificamos la inclusión de este grupo con el propósito de evidenciar posibles modificaciones respecto de los grupos 4 y 5. En este caso el grupo 2 sería control del grupo antes mencionado.

3) *Grupo Ciclofosfamida (Cf)* (n: 8) fue tratado con etanol al 1%, durante 12 días consecutivos. Los días 11 y 12 se administraron además una dosis de ciclofosfamida (Cf) de 50 mg/Kg de peso corporal.

4) *Grupo Melatonina- Ciclofosfamida (MLT-Cf)* (n: 8); este grupo recibió una dosis diaria de melatonina en una concentración de 5mg/Kg de peso corporal diluida en etanol al 1% y administrada por vía intraperitoneal durante 12 días. Los días 11 y 12 recibieron además una dosis de ciclofosfamida (Cf) de 50 mg/Kg de peso corporal.

5) *Grupo Melatonina (MLT)* (n: 8) tuvo el mismo tratamiento que el grupo anterior sin administración de ciclofosfamida. (30,31) Para los grupos experimentales 3 y 4 se utilizó inyectable liofilizado de ciclofosfamida, laboratorio Kemex, y principio activo en polvo fino color casi blanco- crema de melatonina fácilmente soluble en etanol, marca comercial Parafarm.

Los animales fueron ayunados por espacio de 12 horas antes de ser sacrificadas. Se anestesiaron con una dosis conjunta de ketamina y xylazina (80 y 12,8 mg/Kg respectivamente) extirpándose ambas glándulas submandibulares y parótidas. La eutanasia de estos fue practicada en condiciones de inconsciencia mediante dislocación cervical. Todas las actividades experimentales se realizaron siguiendo el protocolo aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Médicas y Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba (CICUAL) con fecha 24 de octubre de 2019.

Las glándulas submandibulares extirpadas se fijaron en solución de Bouin, a pH 7,4 e incluyeron en parafina para obtener cortes histológicos seriados (entre 5 a 7µm) coloreados con la técnica de Hematoxilina/ Eosina. Las muestras obtenidas se observaron con microscopía óptica. Las imágenes se obtuvieron con microscopio Zeiss con objetivos de

10 y 40 aumentos para determinar posibles cambios estructurales.

Todas las imágenes fueron procesadas mediante el software Corel Draw. Se obtuvieron datos cuantitativos relacionados con el número de acinos y conductos por centímetro cuadrado, área y superficie de acinos y conductos.

Resultados

Cuantificación del análisis estructural a nivel acinar

Los grupos control y control con etanol, (1 y 2 respectivamente) evidenciaron un parénquima y estroma acinar normal (*Figura 1*).

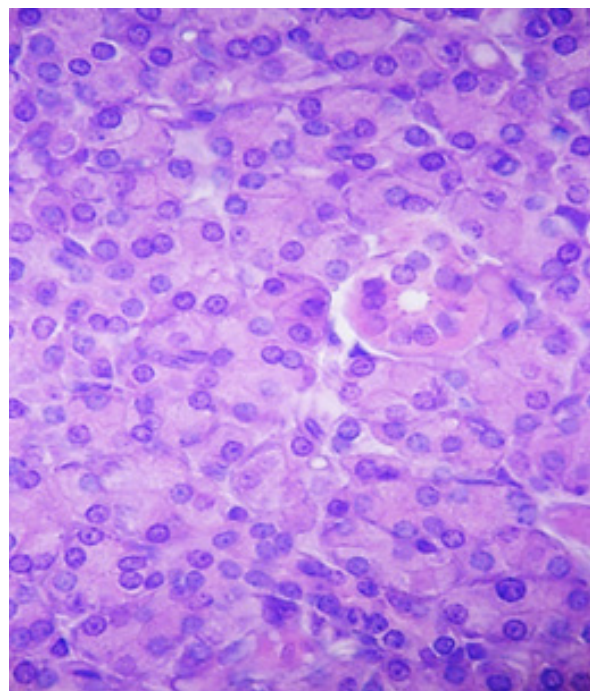


Figura 1. Glándula submandibular de rata Wistar macho adulta control (G1) que evidencia parénquima y estroma acinar normal. H/E. Objetivo 10x.

El grupo 3, tratado con ciclofosfamida, presentó células acinares con macro y anisocariosis e hiper-cromasia nuclear. Al momento de cuantificar dichos cambios se observó con relación a la binucleación, tres binucleaciones por cada 10 campos de gran aumento, en tanto que respecto a macrocariosis y anisocariosis se detectaron tres por cada 10 campos de gran aumento (*Figura 2*).

El grupo 4, tratado con ciclofosfamida y melatonina, evidenció una atenuación de tales efectos estructurales observándose dos binucleaciones por 10 campos

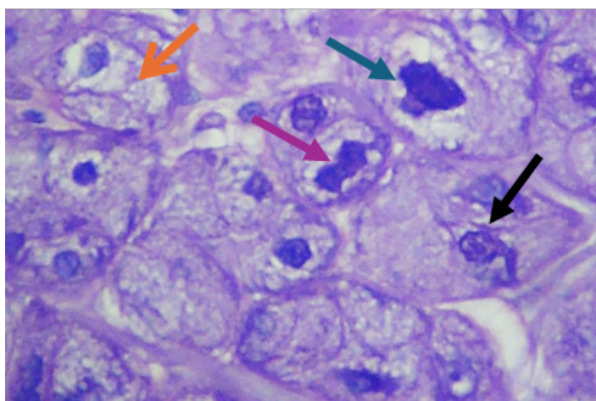


Figura 2. Glándula submandibular de rata Wistar macho adulta tratada con Ciclofosfamida (G3). Flecha naranja: citoplasmas vacuolados. Flecha verde: Macrocariosis e hiper cromasia. Flecha roja binucleación con contornos irregulares. Flecha negra. Núcleo con contornos irregulares, nucleolo bien evidente y grumos perinucleares de cromatina. H/E. Objetivo 40x.

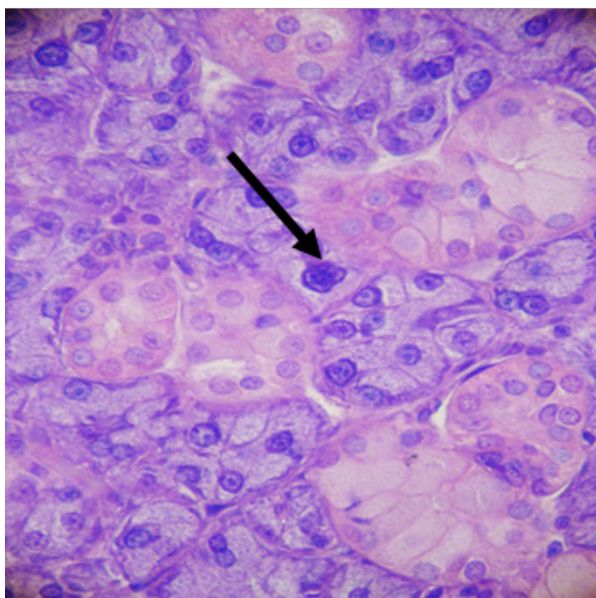


Figura 3. Glándula submandibular de rata Wistar macho adulta tratada con Ciclofosfamida y Melatonina por vía exógena (G4). Flecha negra: Binucleación aislada. Acinos con núcleos y citoplasmas con mínima vacuolización. H/E. Objetivo 40x.

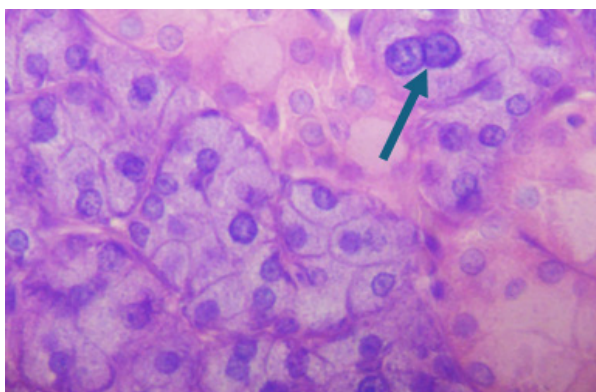


Figura 4. Glándula submandibular de rata Wistar macho adulta tratada con Melatonina por vía exógena (G5). Flecha verde: Parénquima con características estructurales normales. Se señala una binucleación aislada. H/E. Objetivo 40x.

de gran aumento macrocariosis y anisocariosis, solo una por cada 10 campos de gran aumento (Figura 3).

Con relación al grupo 5 tratado solamente con melatonina, se pudo observar que el parénquima no tuvo cambios estructurales, preservando las características de normalidad similares a los grupos control 1 y 2 (Figura 4).

Discusión

La información bibliográfica sobre los cambios histológicos y funcionales de glándula submandibular por acción de drogas oncológicas es escasa. Algunos autores hacen referencia a la exposición de altas dosis de ciertas drogas citostáticas como el 5-fluorouracilo y leucovorina cálcica, observando alteraciones microscópicas relacionadas con evidente inflamación, necrosis glandular e infección bacteriana asociada^{12,13}.

Con el fin de determinar los diferentes efectos farmacológicos de melatonina sobre diversos sistemas orgánicos, se ha probado un amplio rango de concentraciones a nivel experimental. Por ejemplo, en ratas las dosis ensayadas fueron de 3 a 200 mg/kg., sin efectos tóxicos de relevancia. En tanto que en humanos se ensayaron dosis de 1mg hasta 1 gramo de melatonina durante 30 y 90 días sin efectos adversos probados^{14,15}.

Los cambios informados a nivel histológico en la presente investigación podrían correlacionarse con los resultados funcionales obtenidos por nuestro equipo, donde el incremento de la concentración de superóxido dismutasa, ácido úrico y niveles de glucógeno a nivel experimental actuarían como indicadores del aumento de los procesos oxidativos y funcionales en estas glándulas salivales causados por ciclofosfamida^{16,17}.

Se podría inferir que las alteraciones estructurales desencadenadas en particular por dicho fármaco modificarían el patrón secretorio de las mismas. En un estudio previo de nuestro equipo se evaluaron los efectos antioxidantes de otros agentes como las vitaminas C y E con el objetivo de revertir los cambios estructurales y funcionales provocados por la misma droga¹⁸.

En un intento por buscar nuevas alternativas terapéuticas que puedan otorgar mayor eficacia frente a los efectos deletéreos de ciclofosfamida, hemos ensayado a nivel experimental si la melatonina aplicada por vía exógena en la dosis utilizada tendría capacidad para revertir las alteraciones estructurales descriptas.

Desde esta perspectiva, posiblemente la administración de esta hormona como coadyuvante farmacológico, demuestra que puede minimizar las alteraciones estructurales observadas en las glándulas submandibulares y, en consecuencia, disminuir las alteraciones homeodinámicas que producen tales glándulas en la cavidad oral. En este trabajo, la administración de ciclofosfamida afectó tanto a núcleos como a nucléolos. La reducción o ausencia de atipias celulares en los grupos 4 y 5, podría indicar que Melatonina tendría una acción protectora sobre el parénquima de la glándula submandibular, frente a la administración del citostático analizado. Por tratarse de una glándula con acinos mixtos, los cambios fueron más evidentes en los acinos serosos respecto de los mucosos.

En base a los resultados obtenidos se puede hipotetizar que melatonina tendría capacidad protectora minimizando o revirtiendo las alteraciones producidas a nivel estructural, situación que podrían manifestarse en alteraciones funcionales de las glándulas salivales. En este sentido, la melatonina sería útil como coadyuvante en el tratamiento de determinadas afecciones de la cavidad oral, incluidas las complicaciones con asiento en las glándulas salivales provocadas por tratamientos con drogas antineoplásicas.

En concordancia con otros autores, melatonina puede desempeñar un papel importante en la protección de la cavidad oral frente al daño tisular causado por el estrés oxidativo tal como ocurre con las drogas oncológicas. Algunas pruebas experimentales sugieren que la melatonina resultaría útil en el tratamiento de varias enfermedades comunes del sistema estomatognático. Sin embargo, se necesitan estudios más específicos para ampliar las posibilidades terapéuticas a otras enfermedades orales y a las

originadas por el uso de drogas no selectivas con alcance sistémico¹⁹.

A partir de estos hallazgos, se deben profundizar estos estudios, incrementando la dosis y tiempo de exposición a ciclofosfamida y melatonina en el modelo animal propuesto. Así, se podría evaluar con mayor claridad si el efecto deletéreo de esta droga sobre la secreción salival podría ser minimizado mediante la administración de melatonina, la que actuando sobre las glándulas salivales pudiese mejorar la eficacia y calidad secretora salival, considerada como factor primordial en el mantenimiento de numerosas funciones dinámicas del ambiente bucal.

Estas alteraciones que en la actividad clínica han sido evaluadas por diversos autores a través de signos y síntomas concatenados tales como xerostomía, hiposialia, disgeusia, incremento de infecciones bacterianas y fúngicas, inflamación, sangrado gingival y dolor, por acción de citostáticos como el utilizado en el presente protocolo, alteran la calidad de vida de los pacientes oncológicos^{20,21}.

Si bien el objetivo principal en la clínica oncológica es la de reducir o erradicar un determinado tipo de tumor, las complicaciones orales conducen a una serie de desórdenes mórbidos en los pacientes tratados, con incremento de gastos intrahospitalarios y retrasos en el tratamiento de base. Por ello, es importante seguir investigando desde la actividad experimental y clínica todas las alternativas farmacológicas con capacidad para atenuar tales efectos.

Agradecimientos

A la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Córdoba (SeCyT) por el financiamiento del presente proyecto de investigación. A la Lic. Lucrecia García que ha colaborado con las referencias bibliográficas del presente manuscrito.

Referencias bibliográficas

1. Mazzeo MA, Barchmeier E, López MM, Linares JA, Brunotto M, Dubersarsky C, et al. Effect of cyclophosphamide on the metabolism of carbohydrates in the submandibular gland of rats. *Rev Fac Odont.* 2018;28(3):36-39. Disponible en: <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/RevFacOdonto/article/view/22850/22445>

2. Pourhanifeh MH, Hosseinzadeh A, Koosha F, Reiter RJ, Mehrzadi S. Therapeutic effects of melatonin in the regulation of ferroptosis: A review of current evidence. *Curr Drug Targets*. 2024;25(8):543-57. doi:10.2174/0113894501284110240426074746
3. Zhu LQ, Wang SH, Ling ZQ, Wang DL, Wang JZ. Effect of inhibiting melatonin biosynthesis on spatial memory retention and tau phosphorylation in rat. *J Pineal Res*. 2004;37(1):71-7. doi: 10.1111/j.1600-079X.2004.00136.x
4. Møller M, Baeres FM. The anatomy and innervation of the mammalian pineal gland. *Cell Tissue Res*. 2002;309(1):139-50. doi: 10.1007/s00441-002-0580-5
5. Bertolucci C, Foà A. Extraocular photoreception and circadian entrainment in nonmammalian vertebrates. *Chronobiol Int*. 2004;21(4-5):501-19. doi: 10.1081/cbi-120039813
6. Reiter RJ, Tan DX, Maldonado MD. Melatonin as an antioxidant: physiology versus pharmacology. *J Pineal Res*. 2005;39(2):215-16. doi: 10.1111/j.1600-079X.2005.00261.x
7. Auld F, Maschauer EL, Morrison I, Skene DJ, Riha RL. Evidence for the efficacy of melatonin in the treatment of primary adult sleep disorders. *Sleep Med Rev*. 2017;34:10-22. doi:10.1016/j.smrv.2016.06.005
8. Ekmekcioglu C. Melatonin receptors in humans: biological role and clinical relevance. *Biomed Pharmacother*. 2006;60(3):97-108. doi: 10.1016/j.biopha.2006.01.002
9. Shimozuma M, Tokuyama R, Tatehara S, Umeki H, Ide S, Mishima K, et al. Expression and cellular localization of melatonin-synthesizing enzymes in rat and human salivary glands. *Histochem Cell Biol*. 2011;135(4):389-96. doi: 10.1007/s00418-011-0800-8
10. Loy F, Isola M, Isola R, Solinas P, Lilliu MA, Puxeddu R, et al. Ultrastructural evidence of a secretory role for melatonin in the human parotid gland. *J Physiol Pharmacol*. 2015;66(6):847-53. Disponible en: https://www.jpp.krakow.pl/journal/archive/12_15/pdf/847_12_15_article.pdf
11. Isola M, Lilliu MA. Melatonin localization in human salivary glands. *J Oral Pathol Med*. 2016;45(7):510-5. doi:10.1111/jop.12409
12. Ewens AD, Mihich E, Ehrke MJ. Fluorouracil plus leucovorin induces submandibular salivary gland enlargement in rats. *Toxicol Pathol*. 2005;33(4):507-15. doi:10.1080/01926230490966265
13. Jensen SB, Mouridsen HT, Reibel J, Brünner N, Nauntofte B. Adjuvant chemotherapy in breast cancer patients induces temporary salivary gland hypofunction. *Oral Oncol*. 2008;44(2):162-73. doi: 10.1016/j.oraloncology.2007.01.015
14. Bona S, Rodrigues G, Moreira AJ, Di Naso FC, Dias AS, Da Silveira TR, et al. Antifibrogenic effect of melatonin in rats with experimental liver cirrhosis induced by carbon tetrachloride. *JGH Open*. 2018;2(4):117-23. doi: 10.1002/jgh3.12055
15. Singer C, Tractenberg RE, Kaye J, Schafer K, Gamst A, Grundman M, et al. A multicenter, placebo-controlled trial of melatonin for sleep disturbance in Alzheimer's disease. *Sleep*. 2003;26(7):893-901. doi: 10.1093/sleep/26.7.893
16. Bachmeier E, López MM, Linares JA, Brunotto MN, Mazzeo MA. 5-Fluorouracil and cyclophosphamide modify functional activity in submandibular gland of rats. *J Oral Res*. 2019;8(5):363-9. doi:10.17126/%25x
17. Bachmeier E, Wietz FM, Porta DJ, Moine L, Dubersarsky CG, Francia CM, et al. Melatonin reverses oxidative damage in the submandibular gland of rats treated with cyclophosphamide. *Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba*. 2023;80(4):404-19. doi:10.31053/1853.0605.v80.n4.40930
18. Mazzeo MA, Barchmeier E, López MM, Linares JA, Samar ME, Finkelberg AB, et al. Histological changes in submandibular gland of rats treated with cyclophosphamide and antioxidant vitamins. Preliminary study. *Rev Fac Odont*. 2017;27(1):15-8. Disponible en: <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/RevFacOdonto/article/view/16721/16479>
19. Gómez-Moreno G, Guardia J, Ferrera MJ, Cutando A, Reiter RJ. Melatonin in diseases of the oral cavity. *Oral Dis*. 2010;16(3):242-7. doi: 10.1111/j.1601-0825.2009.01610.x
20. Pinto VL, Fustinoni SM, Nazário ACP, Facina G, Elias S. Prevalence of xerostomia in women during breast cancer chemotherapy. *Rev Bras Enferm*. 2020;73(suppl 4):e20190785. doi: 10.1590/0034-7167-2019-0785
21. Silva IMV, Donaduzzi LC, Perini CC, Couto SAB, Werneck RI, de Araújo MR, et al. Association of xerostomia and taste alterations of patients receiving antineoplastic chemotherapy: A cause for nutritional concern. *Clin Nutr ESPEN*. 2021;43:532-5. doi: 10.1016/j.clnesp.2021.03.006