

Maria Teresa Cunha Miranda da Silva Costa

**COMPOSTOS DE ORIGEM ALIMENTAR COM
POTENCIAL EFEITO NA PROGRESSÃO DO
CANCRO**

Orientador(a): Prof. Doutora Ana Sofia Fernandes

Universidade Lusófona Humidades e Tecnologias

Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde

Lisboa

2019

Maria Teresa Cunha Miranda da Silva Costa

**COMPOSTOS DE ORIGEM ALIMENTAR COM
POTENCIAL EFEITO NA PROGRESSÃO DO
CANCRO**

Dissertação defendida em provas públicas para a obtenção do Grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, no Curso de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, no dia 28/05/2019 perante o júri, nomeado pelo Despacho de Nomeação no: de 29 de Janeiro de 2019, com a seguinte composição:

Presidente: Professor Doutor Luís Monteiro Rodrigues

Arguente: Professor Doutor Nuno Saraiva

Orientador: Professora Doutora Ana Fernandes

Vogal: Professora Ana Mirco (Especialista ULHT)

Vogal: Professora Dulce Santos (Especialista ULHT)

Universidade Lusófona Humanidades e Tecnologias

Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde

Lisboa

2019

Maria Teresa Cunha Miranda da Silva Costa
Compostos de origem alimentar com potencial efeito na progressão do cancro

“ Nós somos aquilo que comemos ”

Emílio Peres

Agradecimentos

Queria dedicar esta dissertação às pessoas que sofreram de cancro e aos seus familiares e aos indivíduos que não conseguiram ultrapassar esta doença. Queria também, homenagear os doentes que com dificuldades experimentaram novas técnicas e não conseguiram obter melhorias. Foram comuns a todos as diferentes idas aos consultórios médicos, a remissão da doença e a fragilidade mental e física durante estes processos, as más e boas notícias e as decisões que tiveram que optar. Além disso, queria dedicar este trabalho a todos os animais que também passaram por isso, incluindo o meu cão Teddy, que não conseguiu sobreviver devido à gravidade do cancro, apesar de todas as tentativas feitas.

Queria agradecer à minha mãe, à minha avó, à minha irmã, aos meus primos e à restante família pela a força, ajuda, raspanetes que deram ao longo dos anos. Obrigado pelas oportunidades que me deram!

Obrigado aos meus colegas, aos meus amigos e às minhas melhores amigas, principalmente Maria Ana pelos momentos que passamos juntas, nos intermináveis trabalhos de grupo.

Por fim, queria agradecer à professora Ana Sofia Fernandes e à professora Marisa Nicolai pela paciência e ajuda que me deram na realização nesta dissertação e ao longo dos anos da faculdade, também pretendo agradecer e enaltecer os restantes professores que passaram na minha vida académica, pela ajuda, compreensão e exigência para poder ser uma pessoa competente no mundo de trabalho.

Em último um grande obrigado à Universidade Lusófona Humanidades e Tecnologias pelas oportunidades que tive e pelos momentos de estudo, de convivência, de alegria e dos obstáculos necessários para alcançar o meu grau académico.

Resumo

O cancro é uma das duas patologias do século XXI, com maior taxa de mortalidade, sendo a primeira patologia, as doenças cardiovasculares. Isto deve-se sobretudo às alterações dos estilos de vida das pessoas, a modificações das necessidades básicas e ao aumento da idade média de vida. Os números de novos casos e de mortes têm vindo a aumentar, o que também se deve à melhoria dos meios de diagnóstico.

A alimentação é importante pois permite a ingestão de nutrientes essenciais para que o organismo mantenha as suas funções básicas. Os alimentos podem conter compostos bioativos e metabolitos que contrariam o desenvolvimento do cancro. Estes compostos incluem o trissulfeto de dialilo, os isotiocianatos ou os polifenóis, onde se destacam o resveratrol e a curcumina, pelo impacto na metastização.

O objetivo deste trabalho consiste numa revisão bibliográfica dos estudos acerca do papel dos compostos alimentares bioativos na metastização e na quimioprevenção. Realizou-se ainda uma experiência com curcumina em células de osteossarcoma, um cancro presente nos ossos, de modo a verificar ação da curcumina na viabilidade das células deste tumor.

É relevante que os indivíduos tenham uma alimentação equilibrada, saudável e, por fim completa e intercalando com o exercício físico de forma a prevenir e evitar doenças crónicas e cancros.

Palavras-Chaves: cancro, metastização, compostos alimentares, isotiocianatos, polifenóis

Abstract

Cancer is one of the two 21st century 's disease, the first are cardiovascular diseases. These are mainly due to changes in people's lifestyle, changes in basic needs and increase in the average life-span. The numbers of new cases and deaths are increasing also because of the better diagnosis tools. Other related factors are incorrect behaviours, pollution or food habits.

Food habits are important because they allow the ingestion of essential nutrients that help the body maintaining its basic functions. Some foodstuff contains bioactive compounds and metabolites that may thwart cancer development. These compounds include diallyl trisulfide, isothiocyanates or polyphenols, such as resveratrol and curcumin. Both may impact metastization, a critical phase in cancer development

This work consisted on a bibliographic review about the effects of dietary bioactive compounds in metastization and chemoprevention. In addition, an experiment with curcumin in cells of osteosarcoma, a cancer in bone was performed, in order to verify the action of curcumin in the viability of the cells of this tumour.

It is essential that people adopt a healthy and balanced diet associated with physical exercise in order to prevent chronic diseases and cancer.

Keywords: cancer, metastization, food compounds, isothiocyanates, polyphenols

Índice de Abreviaturas

APC: Polipose adenomatosa coli

ASCO: (γ -glutamil-S-alc(en)il-L-cisteínas e S-alc(en)il-L-cisteína sulfóxidos

Bax: Proteína X associada a Bcl-2

Bcl-2: Proteína 2 de Linfoma de Células B

bFGF: Fator de crescimento básico de fibroblastos

BITC: Isotiocianato de benzilo

CO₂: Dióxido de carbono

CV: violeta de cristal

DADS: Dissulfeto de dialilo

DAS: Sulfeto de dialilo

DATS: Tissulfeto de dialilo

DMSO: Dimetilsulfóxido

DNA: Ácido desoxirribonucleico

E.U.A.: Estados Unidos da América

EGCC: Galato de epigallocatequina

EGFR: Receptor do fator de crescimento epidérmico

GST: Glutathione S-transferase

HIF-1 α : Fator indutível por hipóxia 1- α

HIF-2 α : Fator indutível por hipóxia 2- α

HIF-3 α : Fator indutível por hipóxia 3- α

ITC: Isotiocianatos

NF- κ B: fator nuclear K β

p53: Gene supressor de tumor p53

PBS: Tampão salino-fosfato

PETIC: Isotiocianato de fentil

SD: Desvio-padrão

SFN: Sulforafano

tPa: Ativador do plasminogénio tecidual

UGT: UDP-glucuronosiltransferase

μPA: Ativador do plasminogénio tecidua de tipo uroquinase

VEGF: fator de crescimento endotelial vascular

Índice

1. Introdução	1
2. Cancro	3
2.1 Cancro vs. Tumor	9
2.2 Fatores etiológicos	10
2.3 Classificação TNM	11
2.4 Custos do Cancro	12
3. Carcinogénese	13
3.1 Iniciação	13
3.2 Promoção	14
3.3 Progressão	14
3.3.1. Angiogénese	14
3.3.2. Invasão/ Migração	15
3.3.3. Metastização	17
4. Compostos alimentares	19
4.1. Trissulfeto de dialilo	19
4.2 Isotiocianatos	21
4.2.1. Sulforafano:	22
4.2.2. Isotiocianato de benzilo:	24
4.2.3. Isotiocianato de fentil:	25
4.3 Polifenóis	26
4.3.1. Resveratrol	27
4.3.2 Curcumina	28
5. Componente experimental: Ação da curcumina na viabilidade de células de Osteossarcoma	30
5.1. Materiais e Métodos	31
5.2 Resultados e Discussão	32
5.3 Conclusão	34
6. Conclusão	35
7. Bibliografia	37

Maria Teresa Cunha Miranda da Silva Costa
Compostos de origem alimentar com potencial efeito na progressão do cancro

Índice de Figuras

Figura 1: Taxa de incidências nas diferentes regiões do globo em 2018.....	4
Figura 2: Taxa de mortalidade nas diferentes regiões do globo durante o ano 2018.....	5
Figura 3: Taxa de prevalência durante 5 anos nas diferentes regiões do globo em 2018.	6
Figura 4: Taxa de incidência (A) e taxa de mortalidade (B) para os vários tipos de cancro, durante o ano 2018, a nível mundial	7
Figura 5: Os diferentes tipos de cancros conforme a taxa de incidência em Portugal, em 2018	8
Figura 6: Características de cada tipo de tumor, benigno <i>versus</i> maligno.....	9
Figura 7 Estrutura química de DATS.....	20
Figura 8: Efeito dos DATS, ensaios in vitro e ensaios in vivo, respetivamente	21
Figura 9: Estrutura química de SFN (a), BITC (b) e PETIC (c).....	22
Figura 10: Mecanismo de ação de SFN, os ensaios in vitro e in vivo.....	23
Figura 11: Mecanismo de ação de BITC e seus ensaios in vitro e in vivo.....	24
Figura 12: Mecanismo de ação de PETIC e seus ensaios in vitro e in vivo	25
Figura 13: Estruturas químicas do resveratrol (A) e da curcumina (B).	26
Figura 14: O mecanismo de resveratrol com respetivos ensaios in vitro, in vivo e ensaios clínicos	27
Figura 16: Gráfico de barras da concentração da curcumina versus a percentagem da viabilidade celular.....	33

Índice de Tabelas

Tabela 1: As diferentes taxas em ambos os géneros no Mundo em 2018.....	4
Tabela 2: As diferentes taxas em ambos os géneros em Portugal em 2018.	7
Tabela 3 : Classificação TNM.....	11
Tabela 4: Diferenças entre as fases da carcinogénese (a iniciação, a promoção e a progressão).	13
Tabela 5: Ensaio in vitro, in vivo e ensaio clínico da curcumina.....	29
Tabela 6: Concentrações da curcumina e com os valores de viabilidade celular e com respetivos desvio-padrão.	32

1. Introdução

O cancro é a segunda causa de morte pois provoca 9,6 milhões de vitimas mortais em 2018, sendo 40% de novos casos de cancro que provêm de estilos de vida não saudáveis como sedentarismo, alimentação pobre em legumes e fruta e índice de massa gorda elevado (World Health Organization, 2018a).

A Ásia é a região do globo com maior taxa de incidência, maior de taxa de mortalidade e elevada taxa de prevalência durante 5 anos (Today, 2018). Isto ocorre devido aos fatores ambientais ou genéticos, assim como à deteção precoce dos cancros.

A carcinogénese é a formação das células cancerígenas e é constituída por 3 fases essenciais: a iniciação, a promoção e a progressão (Lu & Kacew, 2010). A progressão consiste na última etapa e é a mais importante pois nesta fase o cancro atinge a circulação sanguínea ou linfática para afetar órgãos à distância (N.Mitchell, Kumar, K.Abbas, & Fausto, 2006). A metastização acontece quando o cancro atinge este último processo. Contudo existem bioativos presentes nos alimentos que reduzem este fenómeno, como por exemplo, o trissulfeto de dialilo, que se encontra em alimentos da família *Allium* como alhos e cebolas (Nicastro, Ross, Milner, & Branch, 2015), os isotiocianatos que se encontram nos brócolos, couves ou couves de Bruxelas (Palliyaguru, Yuan, Kensler, & Fahey, 2018), e os polifenóis que estão presentes em vários alimentos. Destes destacam-se o resveratrol e a curcumina (Yen, Tsai, Lu, & Weng, 2018), que se encontram no vinho tinto e nozes (Chikara et al., 2017) ou no açafrão (Dosoky & Setzer, 2018), respectivamente.

O trissulfeto de dialilo atua nos carcinomas do pulmão através da diminuição do número de metástases (Puccinelli & Stan, 2017) ou da mama (Wei et al., 2017). Os isotiocianatos são constituídos por sulforafano (SFN), isotiocianato de benzilo (BITC) e isotiocianato de fentil (PETIC). O SFN atua nos cancros da bexiga, da mama, da próstata, do fígado ou do glioblastoma. O BITC tem a acção nos carcinomas do pulmão, da mama, do fígado, do coloretal ou no gástrico (Yen et al., 2018). O PETIC é o principal entre estes três compostos, atuando no cancro pulmonar, na próstata, nos ovários ou no cancro coloretal (Yen et al., 2018).

Além disso, os polifenóis, resveratrol e curcumina, possuem outras propriedades especiais devido às suas características anti-inflamatórias e anticancerígenas. O resveratrol apresenta os seus efeitos nos carcinoma da mama, do fígado, do esófago, do colon (Chikara et al., 2017), da bexiga ou no hepatocarcinoma (Malhotra, Bath, & Elbarbry, 2015). A curcumina tem efeitos descritos nos cancros do pulmão (Perrone et al., 2015), do pancreático e do colorectal (Shanmugam et al., 2015).

O objetivo deste trabalho consiste no estudo de compostos alimentares, que atuam na prevenção da metastização das células cancerígenas. Como tal, a presente dissertação focar-se-á nos bioativos acima descritos devido às suas propriedades de quimioprevenção, ou seja, facilitam a redução das lesões malignas e atuam no impedimento da progressão de cancro primário a cancro secundário (Landis-piwowar & Iyer, 2014). Os compostos são de fácil acessibilidade, baixo custo e estão presentes na nossa alimentação diária (Fofaria, Ranjan, Kim, & Srivastava, 2015).

Para além de uma revisão bibliográfica, realizou-se um estudo com a curcumina em células de osteossarcoma para avaliar se a curcumina afeta a viabilidade das células deste tipo de cancro. O osteossarcoma é uma tipo de tumor maligno que prevalece em faixas etárias como nas crianças ou nos adultos jovens, pois este atua em ossos em desenvolvimento (Maran, Yaszemski, Kohut, & Voronov, 2016), sendo o terceiro cancro que mais mortes provoca nesta faixa etária (Misaghi, Goldin, Awad, & Kulidjian, 2018). Contudo são necessários mais ensaios pré-clínicos e clínicos de modo a comprovar a ação dos bioativos de origem alimentar nos diferentes carcinomas.

2. Cancro

As células têm um ciclo de vida muito específico e restrito, no qual crescem, originam uma nova célula e morrem (National Cancer Institute, 2015). Quando se forma uma massa celular com características malignas, dá-se o nome de cancro. O cancro pode invadir outras partes do corpo (Pinto, 2013).

As células não são eliminadas, acumulam-se e tornam-se diferentes do normal, autónomas e não respondem aos estímulos de eliminação. Também existe um crescimento descontrolado e não há controlo na replicação celular. Esta acumulação das células anormais origina tumores, que podem ser malignos ou benignos (World Health Organization, 2018a).

Quando existe a propagação de células malignas para outros órgãos ocorre a metastização. Este processo é a maior causa de morte dentro de todas as causas por cancro (World Health Organization, 2018a).

O cancro é a 2º causa de morte com uma taxa de mortalidade de 9,6 milhões de mortes em 2018. Um terço do cancro é causado por comportamentos de risco como o tabagismo, o sedentarismo, a alimentação pobre em fruta e legumes, o consumo de álcool e, por fim, o índice de massa corporal elevado (World Health Organization, 2018a).

Só no ano 2018 a existência de novos casos é de 17 036 901 casos, sendo que a sua taxa de mortalidade corresponde a 9 555 027 mortes (Tabela 1). Os casos de prevalência durante 5 anos corresponde a 43 841 302 casos. Comparando ambos os géneros, o sexo masculino mostra 9 456 418 casos novos, consequentemente a taxa de mortalidade é a mais elevada, 5 385 640 mortes. O sexo feminino apresenta 8 622 539 novos casos e a taxa de mortalidade sendo de 4 169 387 mortes. Porém, o sexo feminino, com uma taxa de prevalência durante 5 anos, de 22 826 472 casos, comparando ao sexo masculino, com 21 014 830 casos, é superior (Today, 2018).

Tabela 1: As diferentes taxas em ambos os géneros no Mundo em 2018. Adaptado (Today, 2018).

	Número de Incidência	Número de Mortes	Prevalência durante 5 anos
<u>Ambos os Géneros</u>	17 036 901	955 5027	43 841 302
Sexo Masculino	9 456 418	5 385 640	22 826 472
Sexo Feminino	8 622 539	4 169 387	21 014 830

Relativamente à taxa de incidência, a Ásia apresenta uma percentagem de metade dos casos (50,9%), com 8 673 444 mortes (Figura 1). Consequentemente, as regiões com maior percentagem seguidas da Ásia são a Europa com 3 911 317 casos (23,%) , a América do Norte de 1 89 063 casos (11,1%), a América Latina e Caraíbas com 1 134 4161 casos (7,9%), a África de 1 031 046 casos (6,1%) e ,por último, a Oceânia com 80 870 casos (1,1%) (Today, 2018).

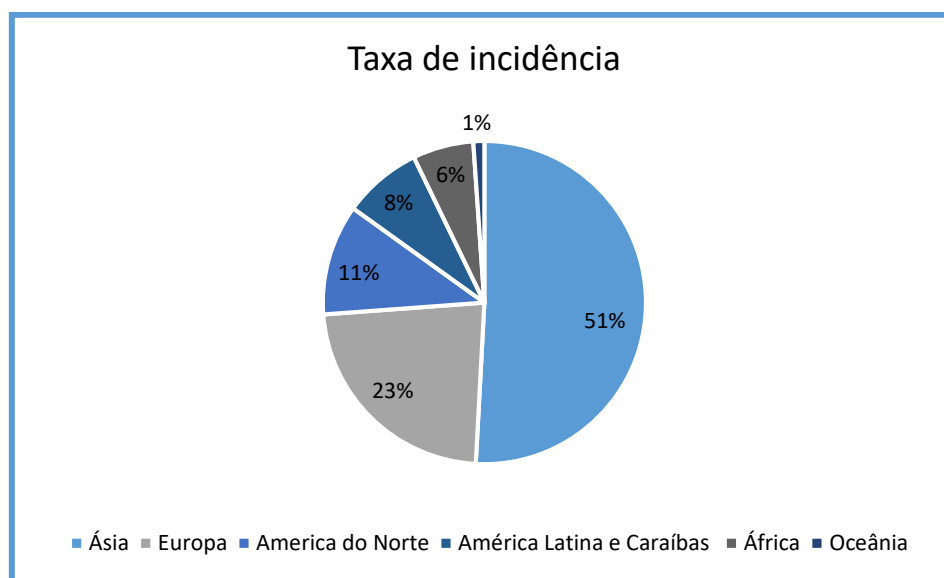


Figura 1: Taxa de incidências nas diferentes regiões do globo em 2018. Adaptado (Today, 2018).

No que diz respeito à mortalidade, a Ásia mostra um número correspondente a mais de metade de mortes de 5 449 790 casos (57,4%). Seguidamente, a Europa apresenta 1 929 709 casos (20,3%). Estas regiões são aquelas que correspondem maior percentagem de mortes. Segue-se a América de Norte que demonstra 692 970 casos, a África contém 683 130 mortes e a América Latina e Caraíbas têm 665 659 mortes, representando percentagens de 7,3 %; 7,2% e 7%, respetivamente (Figura 2). A Oceânia demonstra 68 614 mortes, ou seja, com uma baixa de percentagem da taxa de mortalidade de 0,72% (Today, 2018).

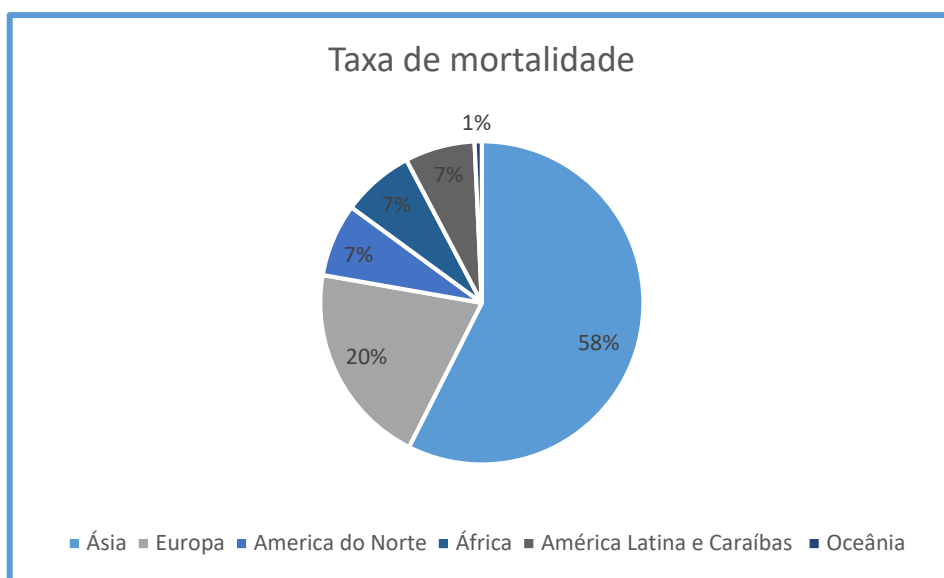


Figura 2: Taxa de mortalidade nas diferentes regiões do globo durante o ano 2018. Adaptado (Today, 2018).

Para além disso, a Ásia ocupa o 1º lugar no número de prevalência durante 5 anos com uma percentagem de 17 147 410 casos (44,4%). Em seguida, a Europa com 10 504 195 casos (27,2%), América de Norte com 5 467 820 casos (14,2%), a América Latina e Caraíbas apresentam percentagem de 3 116 179 casos (8,1%), a África com 184 428 casos (4,9%) e, por último, a Oceânia demonstra 5 233 388 casos (1,4%). Existe uma comparação quase igual entre o número de incidência, o número de mortes e prevalência durante 5 anos presente nas diferentes áreas continentais (Figuras 1, 2 e 3). A região de América Latina e Caraíbas encontra-se na 3ª posição da taxa de incidência e de prevalência, mas na taxa de mortalidade está na 4ª posição entre as regiões (Today, 2018).

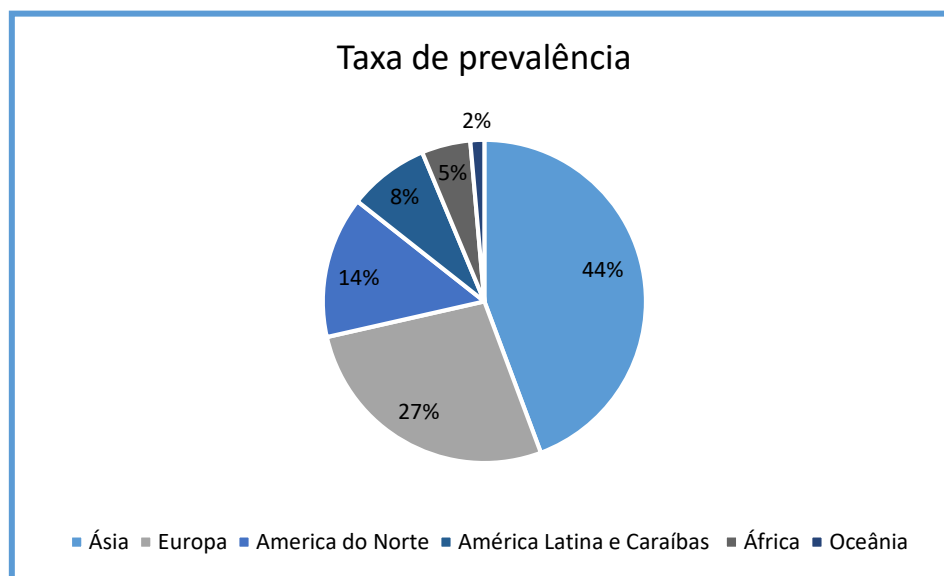


Figura 3: Taxa de prevalência durante 5 anos nas diferentes regiões do globo em 2018. Adaptado (Today, 2018).

As regiões asiáticas apresentam um número elevado de casos por duas razões; ou estes são mais precocemente diagnosticado ou a população apresenta maiores fatores de risco genéticos ou comportamentais (Theodoratou, Timofeeva, Li, Meng, & Ioannidis, 2017).

Relativamente a Portugal, a incidência no ano 2018, em ambos os géneros, foi de 58 199 casos, havendo mais casos de incidência no género masculino (3 245 casos) comparando com o género feminino (Tabela 2). A taxa de mortalidade é aproximadamente 28 960 mortes, sendo o género com mais mortes o feminino com 17 607 mortes. A taxa de prevalência durante 5 anos em ambos os géneros é de 155 645 casos (Today, 2018).

Tabela 2: As diferentes taxas em ambos os géneros em Portugal em 2018. Adaptado (Today, 2018).

	Número de Incidência	Número de Mortes	Prevalência durante 5 anos
<u>Ambos os Géneros</u>	58 199	28 960	155 645
Sexo Masculino	32 475	11 353	79 608
Sexo Feminino	25 724	17 607	76 037

A nível mundial, o cancro do pulmão é o cancro que afeta mais pessoas, com 2 093 876 casos (11,6%). Em seguida, o cancro da mama com 2 088 849 casos (11,6%) e, por fim, o cancro colorectal corresponde a 1 849 518 casos (10,2%) (Figura 4.A). Porém na taxa de mortalidade, os cancros que mais mortes causam são o cancro do pulmão com 1 761 007 mortes (18,4%), depois o cancro colorectal corresponde a 880 792 mortes (9,2%) e, por fim, o cancro do estômago 782 685 mortes (8,2%) (Figura 4.B) (Today, 2018).

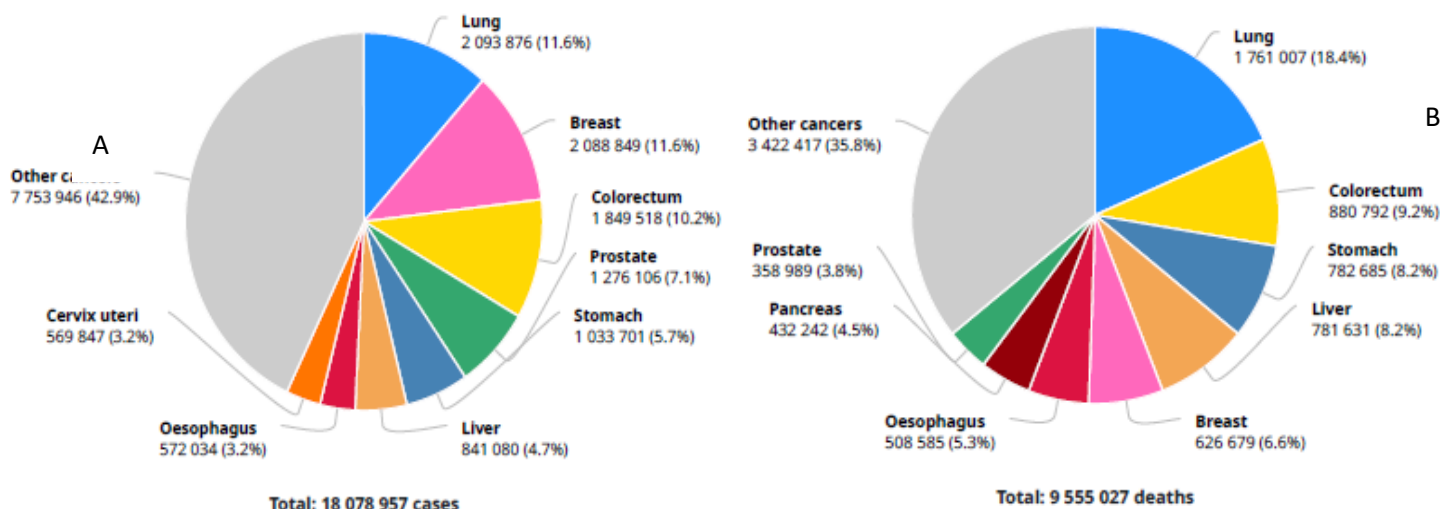


Figura 4: Taxa de incidência (A) e taxa de mortalidade (B) para os vários tipos de cancro, durante o ano 2018, a nível mundial (Today, 2018).

No que diz respeito à Europa, o cancro que afeta mais pessoas é o cancro da mama, apresenta 522 513 casos novos em 2018 (12,4%). Posteriormente, os carcinomas com elevada taxa de incidência são o do colorectal com 499 667 casos (11,8%), o do

pulmão de 470 039 novos casos (11,1%) e o da próstata apresenta 449 761 casos (10,6%). No entanto, a ordem da taxa de mortalidade contraria à ordem da taxa de incidência. O cancro que resulta em mais vítimas mortais é o cancro do pulmão com 387 913 mortes (20%). Consequente, o cancro coloretal com 242 483 vítimas mortais (12,5%), o cancro da mama com 137 707 mortes (7,1%) e, por fim, o do pâncreas com 128 045 mortes (6,6%) (Today, 2018).

Portugal demonstra maior taxa de incidência no cancro coloretal com uma percentagem de 102 701 casos (17,6%). Seguidamente, os cancros com maior taxa de incidência são o da mama com 6 974 casos (12%), o da próstata que apresenta 6 609 casos (11,4%) e o do pulmão com 5 284 casos (9,1%) (Figura 5). Relativamente à taxa de mortalidade, o cancro do pulmão provoca 4 671 mortes (17,1%). Por ordem decrescente os cancros que provocam mais mortes são, o cancro de coloretal com 3 050 de mortes (11,21%), o do estômago com 2 275 de mortes (8,36%) e da próstata com 1 879 de mortes (6,91%) (Today, 2018).

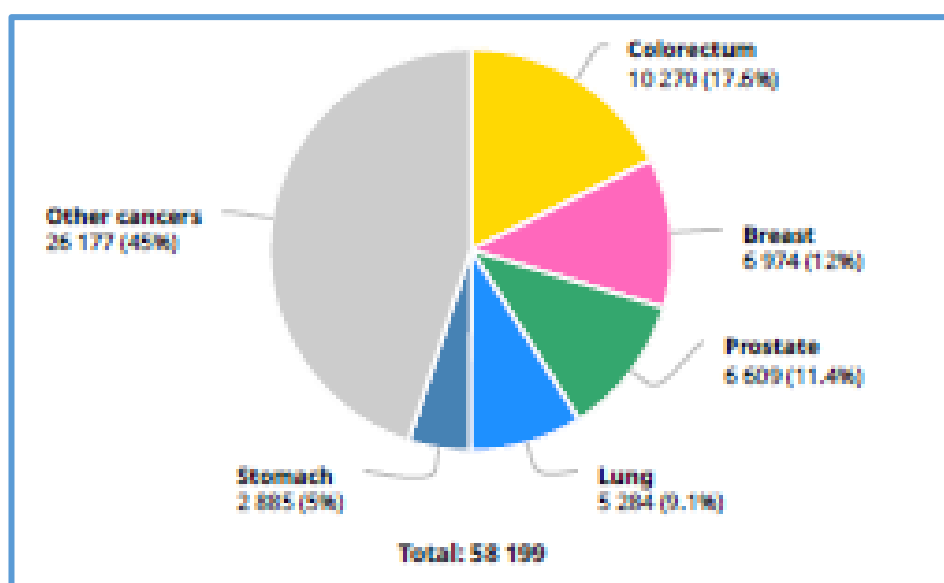


Figura 5: Os diferentes tipos de cancros conforme a taxa de incidência em Portugal, em 2018 (Today, 2018).

2.1 Cancro vs. Tumor

O tumor maligno ou cancro é considerado uma massa que se caracteriza por: um crescimento celular excessivo e as células com características diferentes das originais. Na nomenclatura dos tumores malignos acrescentam-se os sufixos “-sarcoma” ou “-carcinoma”, conforme a sua origem, tecido mesenquimal ou epitelial. Os tumores benignos não invadem outros tecidos, logo têm sempre limites bem definidos. No nome dos tumores benignos adiciona-se o sufixo “-oma”, (N.Mitchell et al., 2006).

A figura 6, refere as diferenças principais entre os tumores como invasão ou metástase.

Características					
Tamanho	Tipo de células	Organização	Crescimento	Invasão a outros tecidos	Metástase
Tumor Begnino					
Igual	Semelhante	Organizada	Lento	Não	Não
Tumor Maligno					
Aumento	Não semelhante	Desorganizada	Rápido	Sim	Sim

Figura 6: Características de cada tipo de tumor, benigno *versus* maligno Adaptado (N.Mitchell et al., 2006).

Os tumores benignos formam uma cápsula, de tecido conjuntivo condensado e não passam o meio extracelular (N.Mitchell et al., 2006). Contrariamente, os carcinomas conseguem passar para a corrente sanguínea, linfática ou para cavidades, e em consequência, originam tumores secundários noutros órgãos mais longínquos (metastização). Esta é uma das principais diferenças entre ambos os tumores (Klaassen, 2008).

2.2 Fatores etiológicos

Os fatores etiológicos são classificados não modificáveis e modificáveis. Primeiramente, os não modificáveis são como a história clínica hormonal e reprodutiva, a raça, a história familiar, a genética e a idade (Wild, 2014). Os modificáveis incluem a dieta, o exercício físico, o tabaco, o consumo de álcool e os comportamentos incorretos, como por exemplo, a exposição solar excessiva (N.Mitchell et al., 2006).

Porém existem outros que a população não tem controlo tais como a exposição ocupacional, os efeitos da poluição (água, ar) ou a exposição a algumas substâncias cancerígenas como a radiação (ultravioleta, ionizante) ou que as mesmas estejam presentes na alimentação (Vil, 2014). Existem vírus oncogénicos, que permanecem durante vários anos em fase de latência como papiloma vírus humano, vírus Epstein-Barr, vírus da hepatite B e da hepatite C ou bactérias como a *Helicobacter pylori*, que são possíveis agentes causadores de cancros (N.Mitchell et al., 2006).

Relativamente aos fatores de risco não modificáveis, a predisposição genética é bastante importante apesar de contribuir em menor grau, mas existem, aproximadamente 10% da população, que apresentam mutações genéticas confirmadas, assim, têm maior suscetibilidade de ter esta patologia (N.Mitchell et al., 2006).

Relativamente à idade, o intervalo de idades em que o cancro é menos comum é entre zero anos e os quarenta anos, pois esta patologia encontra-se associada à idade (Jönsson, Hofmarcher, Lindgren, & Wilking, 2016).

A percentagem de novos casos de cancro provenientes de fatores de risco modificáveis ou ambientais é cerca de 35%, sendo que 20% provém do sedentarismo, da obesidade ou de uma alimentação inadequada. O cancro associado a hábitos tabágicos apresenta uma percentagem de mortes de 43% nos homens e 15% nas mulheres, sendo o tabaco, em média, responsável por 30% das mortes por cancro. As taxas de cancro de pulmão serão mais elevadas se houver exposições prévias. A prevenção é o fator determinante para a diminuição do número de vítimas mortais (Blot & Tarone, 2015).

No que diz respeito à exposição ocupacional, a sua taxa de mortes é de 4%. Com alterações de condições de trabalho e uma redução das exposições a substâncias cancerígenas, reduzirá a 1% (Blot & Tarone, 2015).

2.3 Classificação TNM

Existe uma classificação própria para os tumores malignos a qual fornece informações relevantes tal como o tratamento adequado para o cancro, o prognóstico, a evolução deste, a localização ou mesmo a histopatologia. Esta classificação dá-se o nome de TNM, T é definido como a extensão do tumor primário e é específico para cada local do cancro, N consiste na presença ou ausência de metástase na região dos nódulos linfáticos e o número de metástase nessa região, M justifica a presença ou ausência de metástases distantes que se propagam devido à circulação linfática ou vascular (Brierley, Gospodarowicz, & Wittekind, 2017) e, por último, G refere ao grau de diferenciação (Tabela 3) (Edge et al., 2010).

Tabela 3 : Classificação TNM. Adaptado (Brierley et al., 2017; Edge et al., 2010).

Tumor Primário (T)	Nódulos da Região Linfática (N)	Metástases distantes (M)	Grau de diferenciação (G)
Tx: Tumor primário não pode ser avaliado	Nx: Região dos nódulos linfáticos não pode ser avaliado	Mx: Não estão presentes metástases distantes	Gx: Grau de diferenciação não pode ser avaliado
To: Não há evidência de tumor primário	No: Sem metástase na região dos nódulos linfáticos	M1: Metástases distantes	G1: Bem diferenciado
Tis: Carcinoma <i>in situ</i>	N1-N4: Aumento do envolvimento da região dos nódulos linfáticos		G2: Moderadamente diferenciado
T1-T4: Aumento do tamanho/ local da extensão do tumor primário			G3: Pobrememente diferenciado
			G4: Não diferenciado

2.4 Custos do Cancro

Ao longo dos anos, as despesas do cancro aumentaram devido a programas de triagem, a prevenção de cuidados primários, a novas terapias de cancro como imunoterapia ou radioterapia, a novos equipamentos de diagnóstico e tratamento, ou a inflação monetária dos preços dos medicamentos (Jönsson et al., 2016). A Europa e Estados de Unidos da América (E.U.A) são grandes potências de mercado e com elevado poder económico (Dolgin, 2018).

Na Europa em 2014, os gastos com o cancro foram 83,184 milhões de euros, dos quais os gastos com medicamentos oncológicos foram de 19,1 milhões de euros. Durante anos 1995 a 2014, os gastos com o cancro duplicaram nos países europeus, mas os países da região do leste da Europa triplicaram os seus gastos em saúde. Esta situação é justificada uma vez que esses países gastam mais nos medicamentos, do que com outras despesas relacionadas com o cancro, como a prevenção (Jönsson et al., 2016).

No que refere a Portugal, as despesas totais com o cancro triplicaram, passaram de 263 milhões de euros em 1995 a 639 milhões de euros em 2014. As despesas com os medicamentos permaneceram constantes (221 milhões de euros em 2005, 240 milhões de euros em 2010 e, 227 milhões de euros em 2014). (Jönsson et al., 2016). Os preços triplicaram devido aos gastos com a saúde, despesas com a prevenção e com os cuidados médicos (Jönsson et al., 2016).

Em relação aos E.U.A, os seus gastos com os medicamentos do cancro referem a 32 biliões de dólares, em 2015. Os E.U.A conseguirão poupar perto de 80% se conseguirem negociar com as indústrias farmacêuticas, pois os seus serviços de saúde são privados e sem centralização das compras. Este modelo já foi implementado em alguns países na Europa como Luxemburgo, Holanda, Bélgica e Áustria (Dolgin, 2018).

Nos países menos desenvolvidos, existem programas entre esses países e grandes indústrias farmacêuticas para fornecimentos dos medicamentos como imatinib (Novartis) e trastuzumab (Pzifer) a menor custo (Dolgin, 2018).

3. Carcinogénese

Pode-se considerar a carcinogénese dividida em três etapas principais como a iniciação, a promoção e a progressão.

A tabela 4 refere as diferenças entre principais fases da carcinogénese, que serão referidas posteriormente.

Tabela 4: Diferenças entre as fases da carcinogénese (a iniciação, a promoção e a progressão) Adaptado a (Lu & Kacew, 2010)(Klaassen, 2008) .

Iniciação	Promoção	Progressão
Irreversível	Reversível	Irreversível
Sensível a xenobioticos	As células tumorais continuam a crescer	Diferenciação entre tumores benignos e malignos
Espontâneo	Sensível a fatores dietéticos e hormonais	As células alteradas crescem devido a fatores ambientais.

3.1 Iniciação

A iniciação corresponde um processo veloz e irreversível. Resulta numa lesão mutagénica no DNA, provocada por uma substância cancerígena, chamadas agente iniciador. Muitos agentes promovem o processo de iniciação através da formação de um aducto com ligações covalentes entre eles e DNA (Klaassen, 2008). O resultado final leva mutações genéticas como deleções, inserções ou outras mutações. Quando a célula contém o aducto, pode apresentar vários efeitos como não se replicar ou não ser viável e sofrer um processo de apoptose. Por outro lado, a célula pode dividir-se com essa mutação (N.Mitchell et al., 2006). Este processo de iniciação pode estar associado à conversão de proto oncogénese a oncogénese (Azevedo & E.Sunkel, 2015). A iniciação não promove a autonomia de crescimento e, por essa razão, as células iniciadas só passam para o passo seguinte por estímulos externos (Lu & Kacew, 2010).

3.2 Promoção

A promoção é a segunda fase da carcinogénese. Nela ocorre proliferação das células mutadas e produz-se uma lesão pré-neoplásica (Azevedo & E.Sunkel, 2015). Os agentes externos e internos que estimulam as células a proliferar designam-se de promotores (N.Mitchell et al., 2006). Os promotores per si não permitem a passagem para o passo seguinte. A promoção e a iniciação têm uma característica fundamental que os distingue, a promoção é reversível e a iniciação não o é (Klaassen, 2008) (Lu & Kacew, 2010).

3.3 Progressão

A progressão é a fase mais importante pois alguns tumores benignos podem passar a ser cancros (tumores malignos), basta que haja as condições ideais (Lu & Kacew, 2010). Esta terceira fase é irreversível. Alguns autores referem que existe uma sobreposição entre a progressão e a promoção pois as diferentes etapas acontecem simultaneamente (Klaassen, 2008). A progressão implica a angiogénese, a invasão, a migração celular, a proliferação e, consequentemente, a metastização (N.Mitchell et al., 2006) (Azevedo & E.Sunkel, 2015).

3.3.1. Angiogénese

Os cancros não permitem o seu crescimento sem angiogénese (Pinto, 2013). Esta possibilita o fornecimento contínuo de nutrientes e oxigénio para que o cancro desenvolva, e aconteça a invasão para outros locais. Os tumores estimulam a angiogénese através da formação de neovasos/neovascularização. Os neovasos são formados por destruição proteolítica da membrana basal e matriz extracelular circundante, a proliferação endotelial, a migração das células endoteliais e a reorganização para formar túbulos (Z. Wang et al., 2015). Os neovasos apresentam maior densidade, maior permeabilidade e uma menor resistência vascular.

O microambiente tumoral caracteriza-se por hipóxia, o que é influenciado por vários fatores de crescimento e citocinas (Pinto, 2013). A hipóxia induz fatores pró-oncogénicos (HIF-1 alfa, HIF-2 alfa e HIF-3 alfa), que estimulam as células endoteliais

a proliferar e migrar para formar estruturas perivasculares (Y. Wang, Zhou, Wang, Liu, & Bao, 2017). Estas amadurecem e originam vasos em ambientes pouco estáveis, como a falta de oxigénio, e de glucose para continuar sua formação (Z. Wang et al., 2015).

Existem fatores de angiogénese, os quais induzem a formação desses novos vasos (indutores da angiogénese). As células neoplásicas têm elevada percentagem de indutores em relação aos inibidores da angiogénese pois as alterações no gene p53 (gene supressor de tumor) nas células cancerígenas diminui a formação da trombospondina (inibidor da angiogénese) (Pinto, 2013). Contudo, este gene leva ao aumento do principal indutor da angiogénese, o VEGF (fator de crescimento endotelial vascular) (Pinto, 2013), quando o gene p53 não apresenta estas modificações. O VEGF tem três formas conforme o local de ligação (Z. Wang et al., 2015). O VEGF -3 encontra-se presente nas células endoteliais dos vasos linfáticos e o VEGF-1 e VEGF-2 permanecem nos recetores dos vasos (Z. Wang et al., 2015).

Os indutores como o VEGF e o bFGF (fator de crescimento básico de fibroblastos), apresentam várias origens. Assim, a sua génese provém de diferentes tipos de células como as endoteliais, as neoplásicas ou provenientes do sistema imunitário (N.Mitchell et al., 2006).

3.3.2. Invasão/ Migração

A invasão é composta por 3 fases principais que possibilitam a passagem de células neoplásicas a locais mais distantes:

3.3.2.1 Perda da Adesão Celular: As células encontram conectadas entre si através de moléculas de adesão como caderinas (E-caderina). As caderinas são proteínas transmembranares que apresentam uma parte interna e outra externa. Esta última liga-se às células vizinhas e a parte interna liga-se ao citoesqueleto com ajuda de cateninas (Pinto, 2013).

As cateninas apresentam uma forma β envolvida na sinalização química e na iniciação da divisão celular. A forma α liga-se à β e conectam-se com citoesqueleto. Ainda existe uma terceira forma, mas sem grande relevância. As cateninas ligam-se ao complexo polipose adenomatosa coli (APC) inibindo a função executada pelas caderinas (N.Mitchell et al., 2006; Pinto, 2013).

As moléculas de ancoragem (integrinas) encontram-se na superfície da célula e conectam-se à matriz extracelular e a recetores celulares específicos (Pinto, 2013).

As células tumorais apresentam certas modificações como a perda das junções célula-célula, através da alteração da estrutura da caderina. Se esta situação ocorrer, pode levar à desorganização da parte interna da célula, incluindo a alterações no citoesqueleto e ao aumento do número de integrinas, levando as células neoplásicas a replicarem-se e distanciam-se do local de origem (N.Mitchell et al., 2006) (Azevedo & E.Sunkel, 2015).

3.3.2.2. Migração das células tumorais: As células deslocam-se através de 3 tipos principais de: a individual (Lintz, Muñoz, & Reinhart-King, 2017), a multicelular “streaming” (Clark & Vignjevic, 2015) e a colectiva, sendo que as diferenças entre elas correspondem ao número de células e às conexões entre estas e o substrato. É importante referir que as células, dentro nos vasos sanguíneos, podem migrar isoladas ou formar êmbolos. A formação destes êmbolos permite uma forma mais agressiva de migração e mais predominante (Lintz et al., 2017).

No que diz respeito à migração individual, as células podem apresentar duas formas, a amebóide ou a mesenquimal. Na migração amebóide, as células modificam a forma rapidamente, movimentam-se quer com elevadas velocidades, quer com movimentos caóticos e com pouca velocidade. As células apresentam saliências finas e curtas, associadas com a atividade proteolítica. Na migração mesenquimal, as células apresentam estrutura mais alongada e com proeminências e os seus movimentos são rápidos (Clark & Vignjevic, 2015).

Na migração por “streaming” multicelular, as células movimentam-se lado a lado, não demonstram ligações entre si e são lentas comparando às formas de motilidade anteriores (Clark & Vignjevic, 2015).

Na migração coletiva, as células apresentam ligações entre si e ao meio extracelular, alteram as suas configurações em estruturas mal definidas, e é uma forma de migração mais lenta. (Clark & Vignjevic, 2015).

3.3.2.3. Degradação da matriz extracelular: As células neoplásicas necessitam ultrapassar as barreiras físicas como a membrana basal, o tecido conjuntivo e a membrana basal vascular para atingir a circulação. Ao longo destes passos, as células neoplásicas produzem enzimas proteolíticas e impedem o funcionamento dos inibidores das

proteases. Estas enzimas proteolíticas incluem metaloproteínases, collagenases ou mesmo proteases de serina ou catepsina β . Também existe outro processo extracelular de ativação do plasminogénio. O plasminogénio inativo converte a plasmina, esta degrada as proteínas da matriz extracelular. Existem vários ativadores de plasminogénio, sendo o ativador do plasminogénio tecidual de tipo uroquinase (μ PA) e o ativador do plasminogénio tecidual (tPA) os principais deste processo. A presença de pró-enzima do μ PA liga-se ao recetor na célula que ativa a produção de plasminogénio. Também as metaloproteínases, são consideradas pró-enzimas, necessitando de ativação para serem ativadas. Existe um nível da degradação da matriz extracelular e do grau da proliferação das células tumorais que está relacionado com a quantidade elevada de pró-enzimas e ativadores (Pinto, 2013)(N.Mitchell et al., 2006).

3.3.3. Metastização

A metastização é a etapa mais desafiante e irá provocar a maioria das mortes causadas pelo cancro (Landis-piowar & Iyer, 2014). Nesta etapa, desenvolvem-se vários acontecimentos tal como a invasão para outros tecidos, e o atravessar as barreiras físicas, explicadas anteriormente, culminando no desenvolvimento de tumores secundários. Os tumores extravasam para os outros locais mais longínquos através de três maneiras distintas, incluindo a via da circulação sanguínea ou a via da circulação linfática, que são as mais importantes, e ainda a passagem por cavidades corporais ou iatrogénicas (Pinto, 2013).

Na via linfática, os cancros disseminam mais rapidamente devido a estes locais serem propícios ao seu desenvolvimento. As células tumorais crescem em gânglios e formam êmbolos, resultando adenopatias. As adenopatias são gânglios palpáveis e visíveis pois os seus tamanhos desenvolveram drasticamente. Também, os gânglios linfáticos formados bloqueiam a passagem da drenagem linfática, levando ao aparecimento de uma circulação paralela e possibilitando maior passagem das células tumorais a outros locais (Pinto, 2013). Nas cavidades peritoneu, pleural, pericárdio ou subaracnóide, as células tumorais atravessam com menor progressão comparando com as vias sanguínea e linfática. A via iatrogénica é induzida por intervenção médica, ou seja, foi produzido por algum dispositivo médico que penetra o local onde o cancro se encontra (Pinto, 2013).

As células tumorais passam estas etapas para aderirem a outros tecidos, ao que se dá o nome de “homing”. Existe uma regra generalizada que um tipo de cancro se desloca para outros locais específicos. Porém existem exceções, pois existem órgãos muito vascularizados e não apresentam casos de metástases, como exemplo, os rins, o coração, a pele, os músculos e o baço. Os fatores que influenciam a metastização são a circulação linfática e vascular, a ligação entre os órgãos específicos e as próprias células tumorais, o microambiente do órgão inicial (tumor primário), as diferenças das células endoteliais dos capilares ou a suscetibilidade ao sistema imunitário (Pinto, 2013).

4. Compostos alimentares

Os seres humanos têm uma alimentação complexa e variada, devido a serem omnívoros (Vanamala, 2017). Numa alimentação mais equilibrada, o consumo de hortaliça e fruta deve ser de 5 peças por dia, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (World Health Organization, 2018b).

Os vegetais e fruta apresentam várias propriedades contra a inflamação, as infeções, a ação das proteases ou contra os efeitos do cancro (incluindo a angiogénese e a metastização). Estas propriedades são produzidas pelos bioativos presente nos vegetais e nas frutas, que também permitem a quimioprevenção (Klaassen, 2008), ou seja, impossibilitam que o cancro se inicie, permitem uma redução das lesões malignas ou impedem que estas progridam rapidamente e também intervêm na progressão de tumor primário a tumor secundário (Klaassen, 2008).

A toxicidade dos compostos bioativos presentes na dieta é geralmente reduzida, portanto com reduzidas reações adversas. Como estes bioativos estão presentes na alimentação, há facilidade em adquiri-los, encontram-se em vários locais e seu custo é muito reduzido e as suas aplicações são bastante conhecidas (Fofaria et al., 2015) .

A quantidade de bioativos nos alimentos varia conforme o tipo de colheita, o armazenamento, o tratamento ou mesmo a conservação dos alimentos na casa dos consumidores. Os fatores que influenciam são a temperatura, o tempo de armazenamento, o tratamento que inibe a oxidação dos vegetais e das frutas e a forma de preparação dos alimentos (Vanamala, 2017).

Nas seções seguintes, é apresentada uma pequena revisão sobre alguns dos compostos alimentares mais relevantes com propriedades anti-metastização.

4.1. Trissulfeto de dialilo

A família de *Allium* inclui vegetais como anchovas, alho, cebolas e chalotas; são aproximadamente 500 espécies. O alho e a cebola são originários da China e agora é possível a encontrar em qualquer lugar do mundo. Podem consumir-se cozinhadas, desidratadas ou em guarnição, mas geralmente acompanhadas com outros tipos de

comida. As suas propriedades estudadas incluem propriedades anticancerígenas. Estes vegetais podem ter um efeito preventivo ao nível dos cancros do trato gastrointestinal, coloretal e do esófago. Contudo, a maioria da população não se encontra interessada no aumento da quantidade de ingestão destes vegetais (Nicastro et al., 2015).

Estes alimentos representam uma elevada fonte de moléculas essenciais à alimentação como selénio, potássio, ferro e vitamina C. Apresenta ainda precursores ASCO (γ -glutamyl-S-alc(en)il-L-cisteínas e S-alc(en)il-L-cisteína sulfóxidos), que conferem o odor específico do alho, encontrando-se a 1% no alho seco. ASCO é o precursor de vários metabolitos incluindo metabolitos solúveis e insolúveis na água (Nicastro et al., 2015). Seguidamente, ASCO possibilita a formação do precursor, a allicina. Em ensaios in vitro, a allicina em concentrações não citotóxicas, entre 3 a 6 $\mu\text{g/ml}$, impede que os passos da promoção incluindo a adesão ou a migração (Yen et al., 2018). A allicina é precursor de vários metabolitos insolúveis como DAS (sulfeto de dialilo), DADS (dissulfeto de dialilo) e DATS (trissulfeto de dialilo) (Nicastro et al., 2015).

Os metabolitos insolúveis na água como DAS, DADS e DATS (Figura 7), apresentam propriedades anticancerígenas, como exemplo, o aumento dos mecanismos de apoptose e de supressão do desenvolvimento do cancro, ou o impedimento da etapa de progressão (Nicastro et al., 2015). Os mecanismos responsáveis podem incluir uma diminuição da quantidade de ciclinas ou ativação de ciclinases (Yen et al., 2018), bem como a diminuição das espécies oxidantes (Nicastro et al., 2015). Na Figura 8, demonstra os ensaios in vitro e os ensaios in vivo com a utilização de DATS na fase de progressão.



Figura 7 Estrutura química de DATS. Adaptado (Raghu, Lu, & Sheen, 2012).

Efeitos de DATS contra o cancro

- Invasão
- Migração
- Angiogénese
- Inibe a expressão e a formação de metaloproteinases

Ensaio in vitro

Células de veias umbilicais humanas

- Angiogénese
- ↓ Secreção de VEGF
- Dificuldade na formação dos capilares vasculares

Ensaio in vitro

Efeitos citotóxicos

- Verificou-se nas células tumorais mamárias
- Valores de IC50 que oscilam entre 20 e 40 µmol/L

Ensaio in vivo

Efeitos no impedimento da progressão tumoral

- Murganhos com carcinoma da próstata (1 a 2 mg): ↓ Número de nódulos linfáticos e das metástases secundárias no pulmão
- Peixes-zebra com carcinoma da mama: ↓ Número de nódulos linfáticos e das metástases secundárias no pulmão

Figura 8: Efeito dos DATS, ensaios in vitro e ensaios in vivo, respetivamente. Adaptado (Kiesel & Stan, 2017)(Puccinelli & Stan, 2017)

4.2 Isotiocianatos

Os isotiocianatos (ITC) estão presentes na família de vegetais crucíferos como nas couves, nas couves flores, nos brócolos, nas couves de Bruxelas, na mostarda verde e nos rabanetes (Yen et al., 2018). Estes pertencem à grande família *Brassica* e apresentam grandes concentrações de glucosinolatos, sendo precursores dos isotiocianatos, através de reações de hidrólise. A hidrólise funciona como um mecanismo de defesa contra agentes patogénicos, alterações climáticas e stress. A cadeia $N=C=S$ apresenta elevada electrofilicidade e contribui para os mecanismos de hidrólise (Palliyaguru et al., 2018). Os isotiocianatos incluem o sulforafano (SFN), isotiocianato de benzilo (BITC) e isotiocianato de fentil (PETIC), com propriedades anticancerígenas e

anti-metastáticas (Yen et al., 2018) em vários cancros, incluindo o da mama, do pulmão e o coloretal (Chikara et al., 2017).

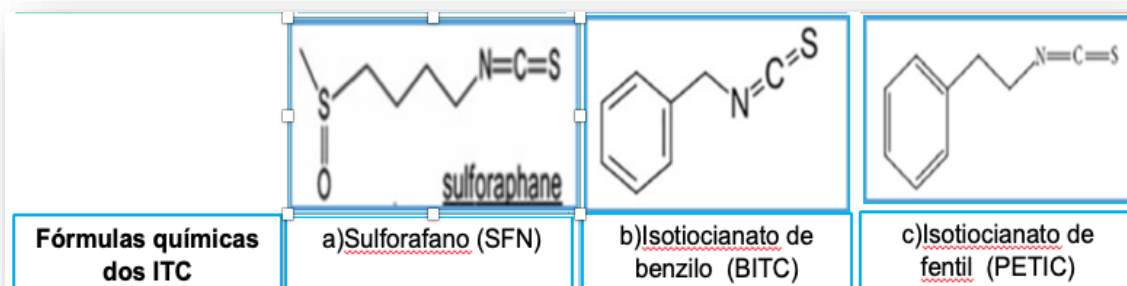


Figura 9: Estrutura química de SFN (a), BITC (b) e PETIC (c).. Adaptado (Tortorella, Royce, Licciardi, & Karagiannis, 2015)(Ibrahim, Al-Hizab, Abushouk, & Abdel-Daim, 2018)(Eisa, Said, Elsherbiny, Eissa, & El-Shishtawy, 2018).

Estes compostos são rapidamente absorvidos e metabolizados, sendo que a percentagem de metabolização oscila entre 60-80%. Os metabolitos de sulforafano encontram-se em maior concentração no trato gastrointestinal, no fígado, na bexiga ou na corrente sanguínea (Tortorella et al., 2015).

4.2.1. Sulforafano:

Este composto (Figura 9.a) aparece maioritariamente nos brócolos e nas couve-flores e apresenta vários mecanismos contra o cancro, de modo a retardar o seu desenvolvimento ou mesmo a progressão. Na Figura 10, verifica como o SFN atua nos diferentes cancros e os respetivos ensaios in vitro e in vivo.

SFN

- Interfere enzimas de fase I e de fase II
- Inibição de fatores indutores de angiogénese (VEGF)
- Inibição de metaloproteínases
- Indução de apoptose

Tipos de cancro no qual SFN atua

- Mama
- Prostata
- Fígado
- Glioblastoma

Ensaio in vitro

- Mama: ↓ Ação de proteases da degradação da matriz extracelular. ↓ Indutores de angiogénese , ↓ citocinas pró-inflamatórias
- Prostata: ↓ Invasão(↓ E-caderinas,↓Metaloproteínases , levando ao impedimento a adesão das células à matriz)
- Bexiga: Actua nos processos de adesão e de migração
- Glioblastoma(10-30 μM): ↓ caderinas e ↓ das metaloproteínases

Ensaio in vivo

- Mama(25 a 50 mg/kg): ↓ Invasão dos nódulos linfáticos
- Prostata(40 mg/kg): ↓ Invasão dos nódulos linfáticos
- Em ambas as experiências utilizaram murganhos

Figura 10: Mecanismo de ação de SFN, os ensaios in vitro e in vivo. Adaptado (Yen et al., 2018)(Russo, Spagnuolo, Russo, & Skalicka-Woźniak, 2016).

4.2.2. Isotiocianato de benzilo:

Este metabolito (Figura 9.b) encontra-se nos alimentos como o repolho, a mostarda, o agrião, a couve-flor e o rábano que são bastante utilizados na nossa dieta (Fofaria et al., 2015). Em seguida, no esquema (Figura 11) verifica os tipos de cancro que BITC atua e os seus ensaios que comprovaram estes mecanismos.

Tipos de cancro no qual BITC atua

- Mama
- Prostata
- Fígado

Mecanismo de ação de BITC (impedimento)

- Iniciação
- Crescimento
- Metastização

Ensaio in vitro

Pâncreas (12 μ M) : Verificou a toxicidade

Fígado (40 a 80 μ M): $\downarrow$ Metaloproteínases

Pulmão(5 μ M): $\downarrow$ Migração e invasão

Mama: $\downarrow$ [μ PA, tPA], $\downarrow$ Caderina, Migração

Colorectal(0,1 e 0,25 μ M): $\downarrow$ [μ PA, tPA] e $\downarrow$ Metaloproteínases

Gástrico: $\downarrow$ Metaloproteínases

Pancreático(5 a 20 μ M): $\downarrow$ Metaloproteínases

Ensaio in vivo

Pâncreas (12 μ M) : Verificou a toxicidade com ratos

Pulmão (5 a 10 mg/kg): $\downarrow$ nódulos linfáticos, $\downarrow$ volume tumoral, $\downarrow$ expressão das proteases, μ PA, tPA, $\uparrow$ inibidores de angiogénese

Pancreático (12 μ mol/kg): Inibe a invasão, angiogénese

Figura 11: Mecanismo de ação de BITC e seus ensaios in vitro e in vivo. Adaptado (Zhu et al., 2017) (Fofaria et al., 2015)(Yen et al., 2018).

4.2.3. Isotiocianato de fentil:

O composto PEITC (Figura 9.c) é o isotacianato mais estudado entre os metabolitos e encontra-se nos alimentos como no agrião, nos rabanetes, nos brócolos ou nos nabos. Para comprovar a presença de PEITC nos vários alimentos, realizaram estudos o primeiro com uma onça de agrião, em que se obteve uma massa de PEITC entre 2 e 6 mg. Na segunda experiência, utilizaram uma massa de 100 g de dois alimentos (agrião e brócolos), que resultou numa quantidade de PEITC aproximadamente de 200 μmol (Gupta, Wright, Kim, & Srivastava, 2014).

O PEITC tem uma biodisponibilidade oral boa e forte ligação com as proteínas, de acordo com estudos em murganhos. Um estudo comprovou que a biodisponibilidade oral oscilava entre 90-114% com uma dose inicial de PEITC correspondente a 10–100 $\mu\text{mol/kg}$ (Gupta et al., 2014).

Quanto à toxicidade deste composto, verifica-se uma baixa toxicidade, mas com efeitos adversos como a diarreia, sendo a dose máxima entre 120 e 160 mg durante 30 dias. Contudo, em ensaios clínicos de fase I, uma dose inicial mais baixa (40 e 80 mg/dia) não demonstrou efeitos adversos (Chikara et al., 2017). Na figura 12, nesta representa os efeitos de mecanismo do PETIC, os cancros que mais intervém e os seus estudos.

Efeitos contra o cancro: Interfere com enzimas antioxidantes da fase II (GST e UGT) ↓ Resposta inflamatória Regula processos e a sua sinalização como: Apoptose, angiogénese, transição epitelial-mesenquimal Atua nas cinases ↓[Metaloproteínas], [NF-κB]	Tipos de cancro que atua: Pulmão Próstata Ovários
Ensaios in vitro <u>Mama</u> ↓Adesão, ↓Agregação, ↓ Migração e ↓ Invasão, ↓Metaloproteínas <u>Colorectal</u>(0,01 e 0,25 μM): ↓ Metástases <u>Próstata</u> (1 μM): ↓ Fatores de angiogénese <u>Próstata</u> (5 μM): ↓ Migração	Ensaios in vitro <u>Mama</u> (murganhos)(65mg/kg): ↓ Metaloproteínas <u>Baço e Fígado</u>(80 a 160 mg/kg): ↓ Tamanho dos tumores e ↑ Peso corporal Via oral (80 a 160 mg/kg): ↓ Fatores de angiogénese e de crescimento

Figura 12: Mecanismo de ação de PETIC e seus ensaios in vitro e in vivo. Adaptado (C. Zhang et al., 2016)(Y. Zhang, 2015)(L. Zhang et al., 2014)(Gupta et al., 2014)(Yen et al., 2018)(Fofaria et al., 2015).

4.3 Polifenóis

Os compostos fenólicos contêm subclasses como monofenóis, o ácido fenólico, flavonoides e polifenóis (como resveratrol e a curcumina) (Yen, Tsai, Lu, & Weng, 2018).

Os polifenóis dividem -se em três categorias conforme a sua solubilidade e a sua permeabilidade nas membranas celulares. A primeira categoria corresponde a alta solubilidade e baixa permeabilidade e inclui, por exemplo, o EGCC (galato de epigallocatequina). A segunda apresenta baixa solubilidade e baixa permeabilidade, como é o caso da curcumina. (Figura 13.B). Por fim, a última categoria apresenta baixa solubilidade e alta permeabilidade nas membranas celulares e tem como exemplo o resveratrol (Figura 13.A) (Hu, Liu, Zhang, & Zeng, 2017).

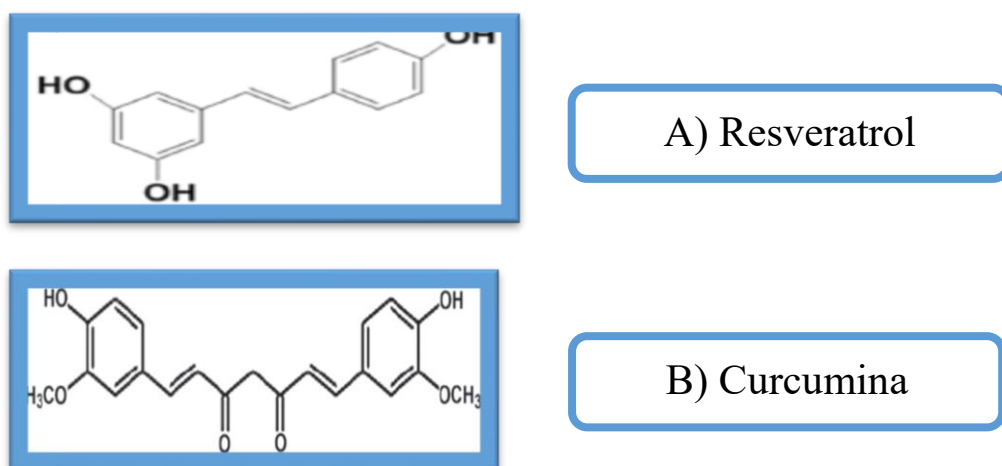


Figura 13: Estruturas químicas do resveratrol (A) e da curcumina (B). Adaptado (Ibrahim et al., 2018)(Perrone et al., 2015).

A estrutura dos polifenóis é variada, sendo os hidrossolúveis geralmente formados por açúcares e grupos hidroxilos, e os lipossolúveis compostos por grupos metilo e unidades isopentil (Hu et al., 2017).

A biodisponibilidade oral dos polifenóis é influenciada por diferentes etapas, incluindo a sua solubilização no trato gastrointestinal, a digestão no estômago ou no intestino delgado e, por fim, o uptake celular pelos enterócitos (Hu et al., 2017).

4.3.1. Resveratrol

O resveratrol (Figura 13.A) encontra-se em vários alimentos como no vinho tinto, nas uvas pretas, nos mirtilos, nos arandos ou nas nozes (Chikara et al., 2017). A sua absorção oral aumenta quando o meio aumenta o seu pH. A sua absorção realiza-se no intestino delgado por difusão passiva e não necessita de proteínas membranares, de acordo com estudos realizados em células Caco-2 (Hu et al., 2017).

Este composto apresenta efeitos anti- cancerígenos e anti-inflamatórios, pois reduz a quantidade de espécies oxidante (Chikara et al., 2017). Na figura 14, explica como o resveratrol atua nos diferentes tipos de cancro e os ensaios estudados com este composto.

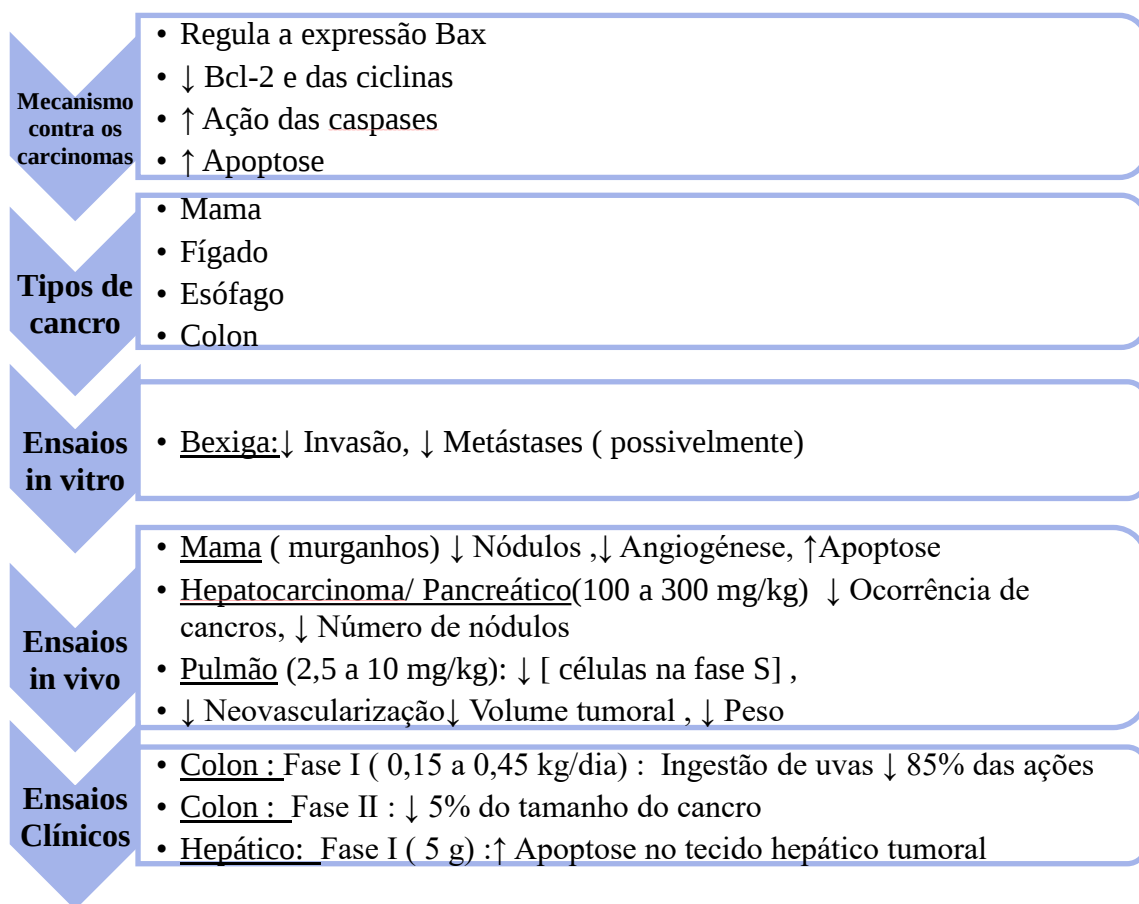


Figura 14: O mecanismo de resveratrol com respetivos ensaios in vitro, in vivo e ensaios clínicos. Adaptado (Hosseini & Ghorbani, 2015) (Bai et al., 2017)(Malhotra et al., 2015)(Chikara et al., 2017).

4.3.2 Curcumina

A família de *Curcuma* engloba 93-100 espécies que se localizam em regiões de ambiente quente como a América do Sul, a África e a Austrália. Existem alguns países como a Tailândia, o Bangladesh, a Índia e Taiwan que utilizam a curcumina na medicina tradicional para combater as pneumonias, as feridas, as mordedelas de insetos, as diarreias, as infeções e entre outras ações medicinais (Dosoky & Setzer, 2018). Além disso, este tipo de planta relaciona-se com a família do gengibre (Perrone et al., 2015).

A espécie mais usada é *Curcuma longa* (Figura 13. B) e pode ser chamada de turmerico ou açafrão, sendo esta muito utilizada como rizoma na dieta no modo de especiaria em pó. Os pratos com esta especiaria apresentam uma coloração amarelada e cheiro intenso. O rizoma turmerico apresenta normalmente hidratos carbono (69,4%), proteínas (6,3%), lípidos (5,1%) e minerais (3,5%). A curcumina é utilizada para a obstipação, para febre, para tosse, para infeções respiratórias ou para outras doenças (Dosoky & Setzer, 2018). Além disso, esta especiaria demonstra efeitos antioxidantes, anticancerígenas, efeitos anti-plaquetários e anti-artríticos (Perrone et al., 2015).

No que diz respeito à absorção da curcumina, a sua passagem do intestino delgado para a corrente sanguínea é através de difusão passiva (Hu et al., 2017).

No que diz respeito aos ensaios de biodisponibilidade, em estudos com os murganhos que utilizaram doses orais elevadas de curcumina (1.2 g/kg), os tecidos do fígado e coloretal e o plasma apresentaram vestígios residuais de curcumina (Feng, Wei, Lee, & Zhao, 2017).

Os ensaios de toxicidade, foram realizados com uma quantidade de curcumina que oscilava entre 36 a 180 mg, cada foi fornecida a 15 pessoas durante 4 meses. Porém, os limites de dosagens não são tóxicos e os metabolitos da curcumina só foram observados nas fezes. Além disso, realizou-se um ensaio com a curcumina em dosagens de 450 mg, de 900 mg, de 1800 mg e de 3600 mg por dia com um tempo de proximamente 4 meses, em 15 pessoas. A curcumina foi bem tolerada, mas teve efeitos adversos no trato gastrointestinal (Shanmugam et al., 2015).

A biodisponibilidade oral depende de vários fatores que variam conforme as pessoas e podem prejudicar as ações da curcumina, sendo que estas alterações aparecem principalmente nos indivíduos com cancro pancreático (Shanmugam et al., 2015). Na tabela 4, verifica como a curcumina atua nos diferentes carcinomas com sua utilização nos estudos in vitro, in vivo e nos ensaios clínicos.

Tabela 5: Ensaios in vitro, in vivo e ensaios clínico da curcumina. Adaptado (Shanmugam et al., 2015)(Tong, Wang, Sun, & Suo, 2016)(Perrone et al., 2015)(Chikara et al., 2017).

Ensaios in vitro	Ensaios in vivo	Ensaios Clínicos
<u>Mama/Colorectal:</u> ↓ [EGFR] Inibi a motilidade das células tumorais	<u>Pancreático:</u> Impede o crescimento tumoral ↓ Angiogénese	<u>Colorectal</u> Fase I (360 mg): ↑ Apoptose ↑ Expressão do gene p53 ↓ Citocinas ↑ Bem –estar geral
<u>Ovário/Mama/ Pulmão:</u> Interação no gene p53 e nos fatores de transcrição (NF-κB) ↑ Apoptose	<u>Próstata (murganhos) (2%):</u> ↓ Extensão dos vasos ↓ Proliferação celular ↓ Metaloproteínases ↓ Metástases	<u>Pancreático</u> Fase II (800 mg): ↓ [Fatores de transcrição] e [Fatores inflamatórios] Fase II (8 mg): ↓ Fatores inflamatórios e Fatores inflamatórios
<u>Pulmão/ Fígado:</u> ↓ Adesão (↓ moléculas de adesão) Impede processos de migração e invasão	<u>Pulmão:</u> ↓ Número de nódulos e metástases ↓ Ciclinas ↓ Metaloproteínases ↓ Fatores de angiogénese	Fase I e II(500 a 800 mg): ↓ Lesões pré-cancerígenas Efeitos anticancerígenos ↑ Segurança da curcumina
<u>Leucemias/Próstata/Mama/Colon/ Metástases no fígado proveniente do colorectal:</u> ↓ [Metaloproteínases]		

5. Componente experimental: Ação da curcumina na viabilidade de células de Osteossarcoma

O osteossarcoma é um tumor maligno ósseo (N.Mitchell et al., 2006). Os indivíduos mais afetados são principalmente as crianças e jovens, pois este afeta sobretudo ossos em desenvolvimento. A causa de morte mais precoce é a possibilidade de existência de metástases nos pulmões, que levam a falências respiratórias. Por estas razões, o osteossarcoma é considerado o terceiro cancro que leva a mais vítimas mortais em idades mais jovens (Misaghi et al., 2018). Contudo as metástases pulmonares, só 30% dos indivíduos têm este desenvolvimento (Maran et al., 2016). A taxa de sobrevivência em doentes sem metástases aproxima-se de 60%. Porém, em doentes com metástases, a taxa de sobrevivência é de 15% (Lindsey, Markel, & Kleinerman, 2017).

Os locais mais comuns para osteossarcoma são os ossos mais longos da parte inferior como o fémur distal e a tíbia. (Brierley et al., 2017; Lindsey et al., 2017). As manifestações clínicas iniciais do osteossarcoma podem incluir dores intensas e intermitentes e o aparecimento de uma massa palpável (Lindsey et al., 2017).

Existem três subtipos conforme o seu grau de diferenciação o alto, o intermédio e o baixo. As células com o grau mais alto correspondem aos osteoblastos, aos condrócitos, aos fibroblastos, às células de dimensões reduzidas, ao telangiectásico, e ao grau mais baixo corresponde ao periosteal e o parosteal. Além disso, neste cancro é importante apurar a histologia, uma vez que será mais fácil o seu tratamento e sua remoção. Isto acontece principalmente no grau de diferenciação mais baixo (Lindsey et al., 2017). Os nódulos linfáticos não são relevantes para este tipo de patologia. O osteossarcoma pode metastizar para vários locais, principalmente para os pulmões, como se encontra referido anteriormente. Também são frequentes as metástases secundárias em outros locais ósseos (Edge et al., 2010). Estima-se que 40% dos indivíduos irão desenvolver metástases secundários ao fim de algum tempo (Lindsey et al., 2017). Além disso, estas situações acontecem em idosos por desenvolvimento de outras patologias associadas/preexistentes (N.Mitchell et al., 2006).

Como descrito anteriormente, a curcumina é um rizoma com propriedades quimiopreventivas que inibe a ação dos fatores de crescimento, da angiogénese. Com estas ações, as células cancerígenas reduzem a capacidade de adesão e entram mais facilmente em apoptose (Shanmugam et al., 2015).

A curcumina pode atuar nas células de osteossarcomas através do aumento dos níveis da proteína Bax e da redução da Bcl-2 (Maran et al., 2016). Com estes mecanismos, a curcumina permite que as células cancerígenas entrem na morte programada (apoptose) (Bandyopadhyay, 2014).

A curcumina apresenta limitações devido à baixa solubilidade aquosa (inferior a 0,125 mg/L), baixa biodisponibilidade, rápido metabolismo e rápida eliminação sistémica (Malhotra et al., 2015). Por isso, é difícil a sua utilização em ensaios in vivo (Gera et al., 2017). A curcumina é apenas solúvel em solventes como dimetilsulfóxido (DMSO) e etanol, devido à sua hidrofília reduzida (NIST, 2010) (Perrone et al., 2015). Além disso, o pH é um fator influenciador na preparação de uma solução da curcumina pois esta dissolve-se dificilmente em meios com pH inferior a 7 (Gera et al., 2017).

Neste estudo, realizaram-se ensaios de viabilidade celular para comprovar a citotoxicidade da curcumina em células humanas de osteossarcoma U2-OS.

5.1. Materiais e Métodos

As células U2-OS foram mantidas em meio de cultura Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) suplementado com 10% de soro bovino fetal, 100 U/mL de penicilina e 0,1 mg/mL de estreptomicina. As culturas foram mantidas a 37 °C, sob atmosfera húmida, contendo 5 % de dióxido de carbono (CO₂).

A curcumina foi dissolvida com DMSO durante duas a três horas com agitação constante e com uma temperatura de 37 °C (NIST, 2010).

Ensaio de coloração com violeta de cristal

A viabilidade celular foi avaliada através do ensaio de coloração com violeta de cristal (CV). As células foram semeadas em microplacas de 96 poços (aproximadamente 3000 células em 190 µL de meio de cultura, por poço) e incubadas por 24 horas. Após este período, as células foram então expostas à curcumina (1- 5,7 µM), durante 24 horas (Fig. 7 A). DMSO 0,5 % e 5 % (v/v) foram usados como controlos negativo e positivo, respetivamente. O ensaio CV foi realizado de acordo com o protocolo descrito previamente por Fernandes e colaboradores (2010), e incluiu a lavagem dos poços com PBS (tampão fosfato salino, pH = 7,4) a 37° C, a fixação das células aderentes com etanol e a coloração com Violeta de Cristal. Após solubilização com solução de etanol com 1%

de ácido acético (Fig. 7 B), foi lida a absorvância a 595 nm. O ensaio compreendeu quatro replicados para cada concentração testada.

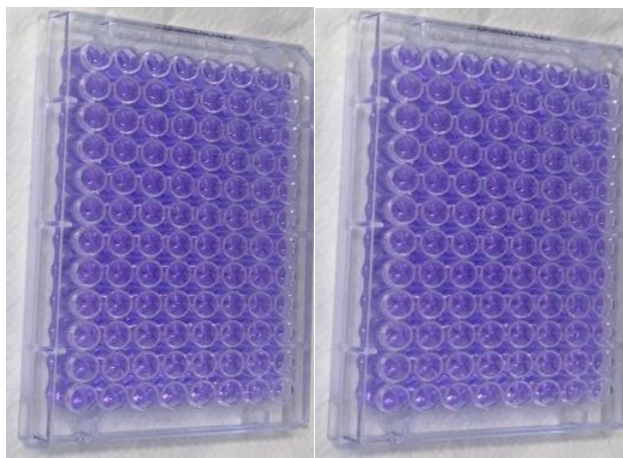


Figura 15: Microplacas com a adição do violeta-cristal.

5.2 Resultados e Discussão

Os resultados obtidos não foram os expectáveis pois a curcumina não inibiu consideravelmente a viabilidade das células do osteossarcoma nas condições do ensaio (Tabela 5, Figura 14). A concentração mais elevada (5,7 μM) apresentou menor viabilidade celular (inibição de 10,5%).

Tabela 6: Concentrações da curcumina e com os valores de viabilidade celular e com respetivos desvio-padrão.

[Curcumina] (μM)	Viabilidade celular (%)	Desvio-padrão (SD)
0	100	1,8
1	93,3	9,1
2	94	8,2
3	96,3	13,2
4	94,9	3,6
5,7	89,5	6,3

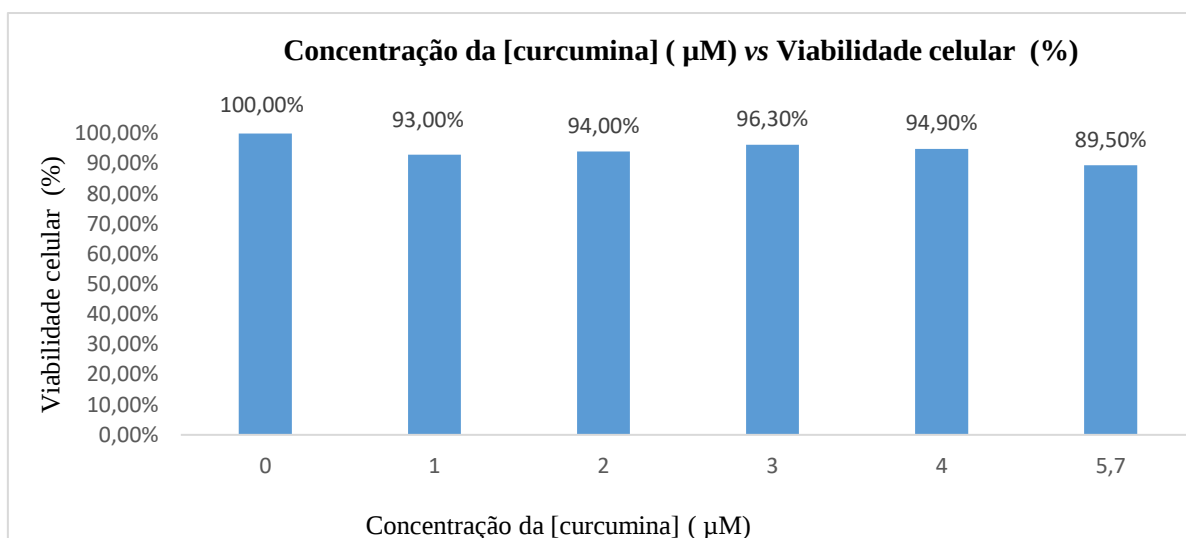


Figura 16: Gráfico de barras da concentração da curcumina versus a percentagem da viabilidade celular.

Os resultados obtidos, pela baixa toxicidade observada, não permitem calcular o valor de IC₅₀ da curcumina. Seria necessário estudar concentrações mais elevadas, o que não foi possível devido à reduzida solubilidade da curcumina. Para aumentar a sua solubilidade, pode haver estratégias como a implementação de lipossomas biodegradáveis e biocompatíveis, nanopartículas, adjuvantes (Gera et al., 2017) ou complexos fosfolípidos (Chuan et al., 2017). Os lipossomas possibilitam o transporte deste componente até ao local de chegada (Chuan et al., 2017). Num estudo com células de osteossarcoma da linha KHOS, estes apresentam um maior IC₅₀ do complexo entre lipossoma e curcumina do que IC₅₀ da curcumina sem lipossoma, ou seja, a viabilidade celular é menor com o complexo entre lipossoma e curcumina. Os efeitos deste complexo demonstram que são três a quatro vezes superiores e aumentam o uptake comparando com os ensaios contendo curcumina sem lipossoma (Feng et al., 2017). Como também, existem ensaios que comprovam a curcumina não impede o crescimento das células cancerígenas (Lima et al., 2018) (Aziz et al., 2018). No estudo realizado por Li e os seus colaboradores (2012), verificou-se para que haja a diminuição significativa da viabilidade celular, é necessário que as concentrações sejam superiores a 7,5 µM (Li et al., 2012). Estas estratégias podem ser implementadas para aumentar a biodisponibilidade da curcumina e a sua eficácia na diminuição da viabilidade de células tumorais (Chuan et al., 2017).

5.3 Conclusão

Nas condições testadas, a curcumina não demonstrou uma citotoxicidade pronunciada para as células de osteossarcoma. Contudo são necessários mais estudos, utilizando diferentes condições experimentais, para avaliar a eficácia da curcumina no osteossarcoma.

6. Conclusão

O cancro é considerada a segunda causa de morte, provocando 9,6 milhões de vítimas mortais todos os anos (Today, 2018).

A carcinogénese é o processo que origina as células neoplásicas e inclui três etapas principais: a iniciação, a promoção (Klaassen, 2008) e a progressão (Lu & Kacew, 2010). A degradação da matriz extracelular permite que as células tumorais atinjam a circulação sistémica ou linfática (N.Mitchell et al., 2006; Pinto, 2013). Quando isto sucede, o cancro estende-se para locais mais longínquos e existe a metastização (Pinto, 2013).

Os hábitos alimentares podem influenciar a progressão tumoral. Existem alimentos que contém compostos bioativos com funções anticancerígenas (Klaassen, 2008). Entre estes compostos bioativos encontram-se o trissulfeto de dialilo, os isotiocianatos (Chikara et al., 2017) e polifenóis como o resveterol e a curcumina (Yen et al., 2018) .

Apesar dos efeitos anti-tumorais reportados para a curcumina, no ensaio in vitro realizado neste trabalho, não se verificou uma citotoxicidade relevante em células de osteossarcoma. No entanto, o estudo foi limitado pela baixa solubilidade da curcumina, sendo necessários estudos adicionais, com diferentes condições experimentais, para uma conclusão definitiva.

Os compostos bioativos alimentares acima mencionados apresentam alterações significativas nas metástases dos vários cancros, associados a baixo custo e fácil acessibilidade (Fofaria et al., 2015).

Estes bioativos associados com os medicamentos oncológicos mostraram bons resultados e podem eventualmente ser implementados ao longo dos tratamentos e da prevenção dos cancros mais agressivos como são os casos da utilização da curcumina com docetaxel (Perrone et al., 2015) ou com DATS com docetaxel/cisplatina em ensaios in vivo (Puccinelli & Stan, 2017). É necessário mais ensaios e estudos para comprovar detalhadamente a vantagem destas associações.

Por outro lado, através da dieta, é difícil a obtenção de concentrações suficientemente elevadas dos compostos bioativos para que tenham a ação pretendida como acontece, por exemplo, com o trissulfeto de dialilo (Nicastro et al., 2015) ou os isotiocianatos (Palliyaguru et al., 2018).

É recomendada uma alimentação equilibrada, saudável e completa de modo adquirir estes bioativos (Theodoratou et al., 2017). As organizações relacionadas com a saúde, incluindo organizações governamentais e não governamentais, devem implementar medidas de prevenção para que os riscos de cancros ou doenças crónicas sejam reduzidos e promover uma alimentação adequada e exercício físico nas diferentes faixas etárias (Meader et al., 2017). As medidas devem ser dirigidas para os adolescentes ou adultos jovens, para que mudem os seus estilos de vida, pois é nestas fases da vida começam a iniciar os comportamentos de risco (McCloud, Kohler, & Viswanath, 2017) como o sedentarismo, a alimentação pobre em fruta ou legumes e o tabagismo (World Health Organization, 2018a). As medidas implementadas deverão incluir comunicação direcionada para os jovens, nos media, para promover estilos mais sãos (Meader et al., 2017), leis favoráveis a comportamentos saudáveis e políticas ambientais e sociais relacionadas com a saúde (McCloud et al., 2017) .

7. Bibliografia

- Azevedo, C., & E.Sunkel, C. (2015). *Biologia Celular e Molecular* (5º; Lidel, ed.). Lisboa: Lidel.
- Aziz, M. N. M., Hussin, Y., Rahim, N. F. C., Nordin, N., Mohamad, N. E., Yeap, S. K., ... Alitheen, N. B. (2018). Curcumin Analog DK1 Induces Apoptosis in Human Osteosarcoma Cells In Vitro through Mitochondria-Dependent Signaling Pathway. *Molecules*, 23(1), 1–15. <https://doi.org/10.3390/molecules23010075>
- Bai, Y., Yang, H., Zhang, G., Hu, L., Lei, Y., Qin, Y., ... Mao, Q. (2017). Inhibitory effects of resveratrol on the adhesion, migration and invasion of human bladder cancer cells. *Molecular Medicine Reports*, 15(2), 885–889. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.6051>
- Bandyopadhyay, D. (2014). Farmer to pharmacist: curcumin as an anti-invasive and antimetastatic agent for the treatment of cancer1. *Frontiers in Chemistry*, 2(December), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fchem.2014.00113>
- Blot, W. J., & Tarone, R. E. (2015). RE: Doll and Peto's Quantitative Estimates of Cancer Risks: Holding Generally True for 35 Years. *Journal of the National Cancer Institute*, 107(10), 1–5. <https://doi.org/10.1093/jnci/djv240>
- Brierley, J. D., Gospodarowicz, M. K., & Wittekind, C. (2017). TNM classification of malignant tumours - 8th edition. In B. O'Sullivan, M. M. MD, H. Asamura, A. Lee, E. Van Eycken, L. Denny, ... S. Gupta (Eds.), *Union for International Cancer Control* (8º). <https://doi.org/10.1002/ejoc.201200111>
- Chikara, S., Nagaprashantha, L. D., Singhal, J., Horne, D., Awasthi, S., & Singhal, S. S. (2017). Oxidative stress and dietary phytochemicals: Role in cancer chemoprevention and treatment. *Cancer Letters*, 413, 122–134. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2017.11.002>
- Chuan, L., Jia, Z., Yu-jiao, Z., Shu-fang, N., Jun, C., Qian, W., ... Park, B. (2017). Biocompatible and biodegradable nanoparticles for enhancement of anti-cancer activities of phytochemicals Li. *HHS Public Access*, 13(9), 641–652. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(15\)30061-3](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(15)30061-3).Biocompatible
- Clark, A. G., & Vignjevic, D. M. (2015). Modes of cancer cell invasion and the role of the microenvironment. *Current Opinion in Cell Biology*, 36, 13–22. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2015.06.004>
- Dolgin, E. (2018). Cancer 's cost conundrum. *Nature*, 555, s26–s29. Retrieved from <https://www.nature.com/articles/d41586-018-02483-3>
- Dosoky, N. S., & Setzer, W. N. (2018). Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils of Curcuma Species. *Nutrients*, 10–17. <https://doi.org/10.3390/nu10091196>
- Edge, S. B., Byrd, D. R., Compton, C. C., Fritz, A. G., Greene, F. L., & Trotti III, A. (2010). 7th ed 2010 AJCC Cancer Staging Manual Seventh Edition. In Stephen B. Edge, D. R. Byrd, & April G. Fritz (Eds.), *AJCC Cancer Staging Manual Seventh Edition* (7º). Retrieved from <http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/detection/staging>

- Eisa, N. H., Said, H. S., Elsherbiny, N. M., Eissa, L. A., & El-Shishtawy, M. M. (2018). *Phenethyl isothiocyanate Triggers Apoptosis, Combats Oxidative Stress and Inhibits Growth of Ehrlich Ascites Carcinoma Mouse Model*. 17(January 2016), 1328–1338. Retrieved from http://ijpr.sbm.ac.ir/article_2289_c82ca5d6e2546908ac9d5187b127e3a6.pdf
- Feng, T., Wei, Y., Lee, R. J., & Zhao, L. (2017). Liposomal curcumin and its application in cancer. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 6027–6044. <https://doi.org/10.2147/IJN.S132434>
- Fofaria, N. M., Ranjan, A., Kim, S. H., & Srivastava, S. K. (2015). Mechanisms of the Anticancer Effects of Isothiocyanates. In *Enzymes* (1st ed., Vol. 37). <https://doi.org/10.1016/bs.enz.2015.06.001>
- Gera, M., Sharma, N., Ghosh, M., Luong Huynh, D., Lee, S. J., Min, T., ... Jeong, D. K. (2017). Nanoformulations of curcumin: an emerging paradigm for improved remedial application. *Oncotarget*, 8(39), 66680–66698. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.19164>
- Gupta, P., Wright, S. E., Kim, S.-H., & Srivastava, S. K. (2014). Phenethyl Isothiocyanate: A comprehensive review of anti-cancer mechanisms. *National Institutes of Health*, 1846(2), 3–4. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2014.08.003>
- Hosseini, A., & Ghorbani, A. (2015). Cancer therapy with phytochemicals : evidence from clinical studies. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 5(2), 84–97.
- Hu, B., Liu, X., Zhang, C., & Zeng, X. (2017). Food macromolecule based nanodelivery systems for enhancing the bioavailability of polyphenols. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(1), 3–15. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.11.004>
- Ibrahim, A., Al-Hizab, F. A., Abushouk, A. I., & Abdel-Daim, M. M. (2018). Nephroprotective Effects of Benzyl Isothiocyanate and Resveratrol Against Cisplatin-Induced Oxidative Stress and Inflammation. *Frontiers in Pharmacology*, 9(November), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01268>
- Jönsson, B., Hofmarcher, T., Lindgren, P., & Wilking, N. (2016). The cost and burden of cancer in the European Union 1995–2014. *European Journal of Cancer*, 66, 162–170. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2016.06.022>
- Kiesel, V. A., & Stan, S. D. (2017). Diallyl trisulfide, a chemopreventive agent from Allium vegetables, inhibits alpha-secretases in breast cancer cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 484(4), 833–838. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.01.184>
- Klaassen, C. D. (2008). C Asarett and D Oull ' S Toxicology. In Curtis D. Klaassen (Ed.), *Toxicology* (7^o, Vol. 12). <https://doi.org/10.1036/0071470514>
- Landis-piwowar, K. R., & Iyer, N. R. (2014). Cancer Growth and Metastasis Cancer Chemoprevention : Current State of the Art. *Libertas Academica Freedom to Research*, 7, 19–25. <https://doi.org/10.4137/CGM.S11288>.RECEIVED
- Li, Y., Zhang, J., Ma, D., Zhang, L., Si, M., Yin, H., & Li, J. (2012). Curcumin inhibits proliferation and invasion of osteosarcoma cells through inactivation of Notch-1 signaling. *FEBS Journal*, 279(12), 2247–2259. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2012.08607.x>

- Lima, F. T., Seba, V., Silva, G., Torrezan, G. S., Polaquini, C. R., Pinhanelli, V. C., ... Marins, M. (2018). The curcumin analog CH-5 exerts anticancer effects in human osteosarcoma cells via modulation of transcription factors p53/Sp1. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(7). <https://doi.org/10.3390/ijms19071909>
- Lindsey, B. A., Markel, J. E., & Kleinerman, E. S. (2017). Osteosarcoma Overview. *Rheumatology and Therapy*, 4(1), 25–43. <https://doi.org/10.1007/s40744-016-0050-2>
- Lintz, M., Muñoz, A., & Reinhart-King, C. A. (2017). The Mechanics of Single Cell and Collective Migration of Tumor Cells. *Journal of Biomechanical Engineering*, 139(2), 021005. <https://doi.org/10.1115/1.4035121>
- Lu, F. C., & Kacew, S. (2010). *Lu's Basic Toxicology*. (5^o; Taylor & Francis Group, ed.). <https://doi.org/10.3109/9781420093124>
- Malhotra, A., Bath, S., & Elbarbry, F. (2015). An organ system approach to explore the antioxidative, anti-inflammatory, and cytoprotective actions of resveratrol. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/803971>
- Maran, A., Yaszemski, M. J., Kohut, A., & Voronov, A. (2016). Curcumin and osteosarcoma: Can invertible polymeric micelles help? *Materials*, 9(7), 10–13. <https://doi.org/10.3390/ma9070520>
- McCloud, R. F., Kohler, R. E., & Viswanath, K. (2017). Cancer Risk–Promoting Information: The Communication Environment of Young Adults. *American Journal of Preventive Medicine*, 53(3), S63–S72. <https://doi.org/10.1016/j.amepre.2017.03.025>
- Meador, N., King, K., Wright, K., Graham, H. M., Petticrew, M., Power, C., ... Sowden, A. J. (2017). Multiple Risk Behavior Interventions: Meta-analyses of RCTs. *American Journal of Preventive Medicine*, 53(1), e19–e30. <https://doi.org/10.1016/j.amepre.2017.01.032>
- Misaghi, A., Goldin, A., Awad, M., & Kulidjian, A. A. (2018). Osteosarcoma: a comprehensive review. *Sicot-J*, 4, 12. <https://doi.org/10.1051/sicotj/2017028>
- N.Mitchell, R., Kumar, V., K.Abbas, A., & Fausto, N. (2006). *Fundamentos de Robbins & Cotran Patologia* (7^o; Abreu's System, ed.). Rio de Janeiro: Elsevier.
- National Cancer Institute. (2015). What Is Cancer? - National Cancer Institute. Retrieved September 15, 2018, from <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>
- Nicastro, H. L., Ross, S. A., Milner, J. A., & Branch, P. (2015). Garlic and onions : Their cancer prevention properties. *HHS Public Access Author*, 8(3), 181–189. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-14-0172.Garlic>
- NIST. (2010). Certificate of Analysis: Curcumin. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2012.06.021>
- Palliyaguru, D. L., Yuan, J. M., Kensler, T. W., & Fahey, J. W. (2018). Isothiocyanates: Translating the Power of Plants to People. *Molecular Nutrition and Food Research*, 62(18), 1–10. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201700965>

- Perrone, D., Ardito, F., Giannatempo, G., Dioguardi, M., Troiano, G., Lo Russo, L., ... Lo Muzio, L. (2015). Biological and therapeutic activities, and anticancer properties of curcumin (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine*, 10(5), 1615–1623. <https://doi.org/10.3892/etm.2015.2749>
- Pinto, A. M. (2013). Fisiopatologia Oncológica. In Lidel (Ed.), *Fisiopatologia Fundamentos e Aplicações* (2º, pp. 293–316). Lisboa: Lidel.
- Puccinelli, M. T., & Stan, S. D. (2017). *Dietary Bioactive Diallyl Trisulfide in Cancer Prevention and Treatment*. 13–15. <https://doi.org/10.3390/ijms18081645>
- Raghu, R., Lu, K., & Sheen, L. (2012). *Recent Research Progress on Garlic (大蒜 dà suàn) as a Potential Anticarcinogenic Agent Against Major Digestive Cancers*. 1–15.
- Russo, M., Spagnuolo, C., Russo, G. L., & Skalicka-Woźniak, K. (2016). Nrf2 targeting by sulforaphane: a potential therapy for cancer treatment. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(8), 1391–1405. <https://doi.org/10.1016/j.future.2015.09.016>
- Shanmugam, M. K., Rane, G., Kanchi, M. M., Arfuso, F., Chinnathambi, A., Zayed, M. E., ... Sethi, G. (2015). The multifaceted role of curcumin in cancer prevention and treatment. *Molecules*, 20(2), 2728–2769. <https://doi.org/10.3390/molecules20022728>
- Theodoratou, E., Timofeeva, M., Li, X., Meng, X., & Ioannidis, J. P. A. (2017). Nature, Nurture, and Cancer Risks: Genetic and Nutritional Contributions to Cancer. *Annual Review of Nutrition*, 37(1), 293–320. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071715-051004>
- Today, C. (2018). All cancers excl. non-melanoma skin cancer. Retrieved September 20, 2018, from Globocan database website: <http://gco.iarc.fr/today>
- Tong, W., Wang, Q., Sun, D., & Suo, J. (2016). Curcumin suppresses colon cancer cell invasion via AMPK-induced inhibition of NF-κB, uPA activator and MMP9. *Oncology Letters*, 12(5), 4139–4146. <https://doi.org/10.3892/ol.2016.5148>
- Tortorella, S. M., Royce, S. G., Licciardi, P. V., & Karagiannis, T. C. (2015). Dietary Sulforaphane in Cancer Chemoprevention: The Role of Epigenetic Regulation and HDAC Inhibition. *Antioxidants & Redox Signaling*, 22(16), 1382–1424. <https://doi.org/10.1089/ars.2014.6097>
- Vanamala, J. (2017). Food systems approach to cancer prevention. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(12), 2573–2588. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1028023>
- Wang, Y., Zhou, Z., Wang, W., Liu, M., & Bao, Y. (2017). Differential effects of sulforaphane in regulation of angiogenesis in a co-culture model of endothelial cells and pericytes. *Oncology Reports*, 37(5), 2905–2912. <https://doi.org/10.3892/or.2017.5565>
- Wang, Z., Dabrosin, C., Yin, X., Fuster, M. M., Arreola, A., Rathmell, W. K., ... Jensen, L. D. (2015). Broad targeting of angiogenesis for cancer prevention and therapy. *Seminars in Cancer Biology*, 35, S224–S243. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2015.01.001>

- Wei, Z., Shan, Y., Tao, L., Liu, Y., Zhu, Z., Liu, Z., ... Lu, Y. (2017). Diallyl trisulfides, a natural histone deacetylase inhibitor, attenuate HIF-1 α synthesis, and decreases breast cancer metastasis. In *Molecular Carcinogenesis* (Vol. 56). <https://doi.org/10.1002/mc.22686>
- Wild, B. W. S. and C. P. (2014). *World Cancer Report 2014*. 630. <https://doi.org/9283204298>
- World Health Organization. (2018a). Cancer. Retrieved September 20, 2018, from <https://www.who.int/cancer/en/>
- World Health Organization. (2018b). Healthy diet. Retrieved November 1, 2018, from <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/healthy-diet>
- Yen, G., Tsai, C., Lu, C., & Weng, C. (2018). ScienceDirect Recent progress in natural dietary non-phenolic bioactives on cancers metastasis. *Journal of Food and Drug Analysis*, (June), 1–24. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.05.003>
- Zhang, C., Shu, L., Kim, H., Khor, T. O., Wu, R., Li, W., & Kong, A. N. T. (2016). Phenethyl isothiocyanate (PEITC) suppresses prostate cancer cell invasion epigenetically through regulating microRNA-194. *Molecular Nutrition & Food Research*, 60(6), 1427–1436. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500918>
- Zhang, L., Hao, Q., Bao, L., Liu, W., Fu, X., Chen, Y., & Wu, H. (2014). Phenethyl isothiocyanate suppresses cervical carcinoma metastasis potential and its molecular mechanism. *Molecular Medicine Reports*, 10(5), 2675–2680. <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2565>
- Zhang, Y. (2015). Phase II Enzymes. In *Encyclopedia of Cancer*. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-46875-3>
- Zhu, M., Li, W., Dong, X., Chen, Y., Lu, Y., Lin, B., ... Li, M. (2017). Benzyl-isothiocyanate induces apoptosis and inhibits migration and invasion of hepatocellular carcinoma cells in vitro. *Journal of Cancer*, 8(2), 240–248. <https://doi.org/10.7150/jca.16402>