

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS CHAPECÓ
CURSO DE MEDICINA**

**LEONARDO MOREIRA DAMASCENO
LETTIZIA WESLER CUBAS**

**AÇÃO ANTITUMORAL DA CURCUMINA NA VIABILIDADE CELULAR EM
LINHAGEM DE CÂNCER DE MAMA – MDA-MB-231:
REVISÃO SISTEMÁTICA**

**CHAPECÓ
2021**

LEONARDO MOREIRA DAMASCENO

LETTIZIA WESSLER CUBAS

**AÇÃO ANTITUMORAL DA CURCUMINA NA VIABILIDADE CELULAR EM
LINHAGEM DE CÂNCER DE MAMA – MDA-MB-231:
REVISÃO SISTEMÁTICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como parte dos requisitos para obtenção do grau de Médico (a).

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Moreno

CHAPECÓ

2021

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul –UFFS

Damasceno, Leonardo Moreira
AÇÃO ANTITUMORAL DA CURCUMINA NA VIABILIDADE CELULAR
EM LINHAGEM DE CÂNCER DE MAMA ? MDA-MB-231: REVISÃO
SISTEMÁTICA / Leonardo Moreira Damasceno, Lettizia
Wessler Cubas. -- 2021.
23 f.

Orientador: DOUTOR Marcelo Moreno

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) –
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Medicina, Chapecó, SC, 2021.

1. Câncer de mama. 2. Curcumina. 3. Metástases. 4.
Técnicas de Cultura de Células. 5. Sobrevivência
Celular. I. Cubas, Lettizia Wessler II. Moreno,
Marcelo, orient. III. Universidade Federal da Fronteira
Sul. IV. Título.

LEONARDO MOREIRA DAMASCENO

LETTIZIA WESSLER CUBAS

**AÇÃO DA CURCUMINA NA VIABILIDADE CELULAR EM LINHAGEM DE
CÂNCER DE MAMA – MDA-MB-231:
REVISÃO SISTEMÁTICA**


Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como parte dos requisitos para obtenção do grau de Médico (a).

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 21/10/2021.

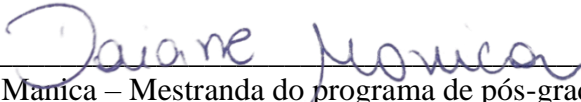
BANCA EXAMINADORA


Assinado de forma digital por Marcelo Moreno
Dados: 2022.09.10 15:31:42 -03'00'

Prof. Dr. Marcelo Moreno – UFFS
Orientador



Profa. Dra. Margaret Dulce Bagatini – UFFS
Avaliador



Nutricionista Daiane Manica – Mestranda do programa de pós-graduação em Ciências Biomédicas - UFFS
Avaliador

**AÇÃO DA CURCUMINA NA VIABILIDADE CELULAR EM LINHAGEM DE
CÂNCER DE MAMA – MDA-MB-231:
REVISÃO SISTEMÁTICA**

Leonardo Moreira Damasceno
Lettizia Wessler Cubas
Marcelo Moreno

RESUMO

O câncer está entre as principais causas de mortalidade no mundo, com aproximadamente 18 milhões de novos casos e 9,6 milhões de mortes só em 2018. É a neoplasia maligna mais incidente em mulheres no mundo, e a segunda mais diagnosticada na população geral, atrás apenas do câncer de pulmão. O câncer de mama metastático, até o momento não possui cura, sendo responsável pela grande maioria das mortes causadas por essa doença. Diferentes pesquisas, em fase pré-clínica e com componentes naturais para o controle da multiplicação de células do câncer de mama, têm sido publicadas nos últimos anos. Dentre componentes naturais estudados, se destaca a curcumina - um polifenol com importantes atividades biológicas no câncer. Uma das metodologias mais utilizadas, para estudar efeitos antitumorais de substâncias, são as culturas de células. Sendo que a linhagem celular MDA-MB-231 representa o melhor modelo por apresentar um fenótipo agressivo de câncer de mama metastático. Assim, no presente trabalho se propôs revisar a ação e os efeitos da curcumina, e derivados, sobre a linhagem celular MDA-MB-231. Para isso, foram analisados artigos científicos das bases de dados *PubMed*, *LILACS*, *BVS* e *SciELO*, sem delimitação de tempo de publicação. Foram incluídos trabalhos que possuíam os descritores ((câncer de mama or *breast cancer*) and (metástase or *neoplasm metastasis*)) and (curcumina or *curcumine*) e que atendiam o objetivo proposto por essa pesquisa. As evidências demonstram que a metodologia mais utilizada para avaliar a viabilidade da linhagem celular foi o ensaio de MTT (brometo de 3-4,5-dimetil-tiazol-2-il-2,5-difeniltetrazólio). A diluição que mais prevalece na literatura é a curcumina purificada da cúrcuma com pureza superior a 95%, e o tratamento mais utilizado para avaliar os efeitos sobre a linhagem celular é na concentração de 20µM. As evidências confirmam os efeitos antiproliferativos, pró-apoptóticos, anti-metastáticos e anti-inflamatórios da curcumina.

Palavras-chave: Câncer de mama. Curcumina. Metástases. Técnicas de Cultura de Células. Sobrevivência Celular.

ABSTRACT

Cancer is one of the leading causes of mortality in the world, with approximately 18 million new cases and 9.6 million deaths in 2018. It is the most common malignant tumor in women in the world, and the second most diagnosed in the general population, second only to lung cancer. Metastatic breast cancer, so far, has no cure, accounting for the vast majority of deaths caused by this disease. Different research on natural components to control the multiplication of breast cancer cells have been published in recent years, including curcumin - a polyphenol with important biological activities in cancer. Cell cultures are one of the approaches used to study antitumor effects of substances, especially the MDA-MB-231 cell line, which represents an aggressive phenotype of metastatic breast cancer. Thus, the present work sought to review the action and effects of curcumin, and derivatives, on the MDA-MB-231 cell line. For this, scientific articles from PubMed, LILACS, BVS and Scielo databases were analyzed, without limitation of year. Studies that had the descriptors (*cancer de mama* or breast cancer) and (*metástase* or neoplasm metastasis) and (*curcumina* or curcumin) and that met the objective proposed by this research were included. Evidence demonstrates that the most used methodology to assess cell line viability was the MTT assay (3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide). The most prevalent dilution in the literature is curcumin purified from turmeric with a purity greater than 95%, and the most used treatment to assess the effects on the cell line is at a concentration of 20 μ M. Evidence supports the anti-proliferative, pro-apoptotic, anti-metastatic and anti-inflammatory effects of curcumin.

Keywords: Breast cancer. Curcumin. Metastasis. Cell Culture Techniques. Cell Survival.

1 INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (2020), o câncer é a segunda causa de mortes no mundo, com aproximadamente 18 milhões de novos casos e 9,6 milhões de mortes a cada ano. É esperado que o número de novos casos aumente em 70% nas próximas duas décadas. No Brasil, estima-se a ocorrência de mais de 626 mil casos este ano (INCA, 2020). Nesse contexto, destaca-se o câncer de mama (CM), por ser a neoplasia mais incidente em mulheres no mundo, e a segunda neoplasia mais diagnosticada na população geral, atrás apenas do câncer de pulmão (FOUKAKIS, 2020). No Brasil, as estimativas apontam 66.280 novos casos de CM em mulheres para o ano de 2020 e um total de 17.572 mortes por essa doença na população feminina (INCA, 2020).

O CM é caracterizado como um grupo de neoplasias com comportamento heterogêneo, possuindo diferentes apresentações clínicas e morfológicas, perfis genéticos e respostas terapêuticas. O mecanismo exato pelo qual o CM é iniciado é desconhecido, no entanto, muito esforço tem sido feito para caracterizar molecularmente e delinear a formação e progressão da doença, especialmente quando se trata do CM metastático, que até o momento não possui cura, sendo responsável pela grande maioria das mortes causadas pelo CM (BLEWISS, 2020).

Uma das abordagens para o tratamento do CM tem sido investigar se compostos naturais teriam efeito no controle ou suspensão da progressão da doença. Um dos compostos naturais que frequentemente tem sido investigado é a curcumina, um polifenol e principal curcuminóide extraído da cúrcuma (*Curcuma longa*). Essa substância tem demonstrado importantes atividades biológicas em diversas doenças crônicas inflamatórias, artrite reumatoide, síndromes metabólicas e obesidade, além de ações relacionadas ao impedimento de progressão da divisão celular em vários tipos de câncer. Desta forma, a curcumina apresenta um possível potencial de abordagem terapêutica no CM metastático (ZHANG et al., 2007; GIORDANO; TOMONNARO, 2019).

Uma das abordagens utilizadas para estudar efeitos antitumorais de substâncias são as culturas de células. Neste contexto do CM metastático, destaca-se a linhagem celular MDA-MB-231, um modelo experimental que é triplo negativo para os receptores de estrogênio, progesterona e EGF tipo 2 (HER2), representando assim um fenótipo agressivo de CM metastático, com alto potencial de crescimento, invasão e atividade inflamatória. Essa linhagem celular tem sido abordada em diversos estudos recentes por ser um padrão útil para abordar efeitos antiproliferativos, pró-apoptóticos, anti-metastáticos e anti-inflamatórios para modelos biológicos do CM metastático (WRIGHT et al., 2013; BACHMEIER et al., 2006).

Desta forma, o presente estudo buscou avaliar as evidências disponíveis na literatura a respeito das ações e efeitos da curcumina sobre células da linhagem MDA-MB-231, que representam um modelo experimental de CM metastático, bem como as vias celulares pelos quais tais efeitos são alcançados. O levantamento das evidências científicas foi realizado por meio de uma revisão sistemática da literatura.

2 METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão sistemática da literatura, delineada, estruturada e registrada com base nos itens da ferramenta *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA). A presente revisão sistemática foi registrada no banco de dados *International Prospective Register of Systematic Reviews* (PROSPERO) sob o número 214641.

2.1 Estratégia de busca e critérios de seleção

As buscas foram aplicadas às bases de dados MEDLINE via PubMed, *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), Literatura Latino-americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) e Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), e foram utilizados os descritores (câncer de mama *or breast cancer*) *and* (metástase* *or metastasis*) *and* (curcumina *or curcumine*). Foram incluídos no estudo todos os artigos originais que avaliaram o efeito da curcumina na linhagem celular MDA-MB-231, publicados nos idiomas português, inglês ou espanhol, sendo considerados estudos *in vitro* e pré-clínicos com animais.

Não foi utilizada delimitação de tempo para as publicações incluídas, por se tratar de um tema recente na literatura, sendo consideradas todas as publicações relevantes para o estudo até a data de 28 de maio de 2021.

Foram excluídos artigos de revisão, estudos clínicos, estudos que não avaliaram o efeito da curcumina sobre a linhagem celular MDA-MB-231, artigos em outros idiomas e literatura cinzenta (cartas ao editor, artigos de opinião, resumos de eventos científicos).

2.2 Coleta de dados e avaliação de qualidade das informações

Após a busca inicial pelos descritores nas bases de dados, foi realizada a primeira análise para exclusão de estudos duplicados. Os artigos remanescentes tiveram seu conteúdo verificado via título e resumo por dois pesquisadores independentes (LWC e LMD) e, em casos de discordância a respeito da relevância para revisão, o consenso foi estabelecido por um terceiro pesquisador sênior (MM). A análise por título e resumo determinou a pertinência das publicações e aquelas que não se enquadram nos critérios de seleção, foram também excluídas.

Os artigos restantes foram analisados em sua integralidade para a elaboração da revisão sistemática. Após a leitura completa dos textos, caso algum trabalho ainda não se enquadre nos critérios de seleção este também foi excluído, sendo especificado o motivo da exclusão.

As publicações por fim selecionadas para compor a revisão tiveram seus dados extraídos para planilha eletrônica (*Microsoft® Excel* versão 16.42) baseada nos seguintes domínios: autores do trabalho, ano de publicação, tipo de estudo realizado, derivado da cúrcuma utilizado, via de administração, via celular avaliada pelo estudo e efeito apresentado pela curcumina. A extração e computação destes dados também foi realizada por dois pesquisadores independentes e avaliada por um terceiro pesquisador sênior.

Os dados obtidos foram apresentados por meio de tabelas, bem como exposição descritiva e discussão dos resultados levantados, por meio dos quais foram reunidas as evidências científicas para se chegar à conclusão do real papel e efeitos da curcumina na linhagem de CM metastático MDA-MB-231.

3 RESULTADOS

Foram encontrados 121 estudos na busca inicial nas bases de dados eletrônicas. Após a identificação e exclusão dos registros duplicados entre as bases de dados e os estudos de revisão ($n = 37$), 84 artigos potenciais foram avaliados pelos dos títulos e resumos (Figura 1). Destes, 54 foram encaminhados para a avaliação dos textos integrais, onde 37 artigos foram excluídos, pelos seguintes motivos: não ter sido utilizada a linhagem celular MDA-MB-231 ($n = 12$); não ter sido utilizado derivado da cúrcuma ($n = 4$); não ter sido realizada avaliação *in vitro* ($n = 10$); não se tratar de artigo original ($n = 7$); e devido ao delineamento do estudo não estar claro ($n = 4$). Dessa forma, a síntese descritiva da presente revisão foi composta por 17 artigos originais, todos eles de delineamento pré-clínico com linhagem celular MDA-MB-231 (*in vitro* e *in vivo*) (Figura 1). O resumo dos dados levantados a partir dos artigos selecionados para a revisão estão apresentados nas Tabelas 1 (estudos *in vitro*) e 2 (estudos *in vitro* e *in vivo*).

Figura 1. Fluxograma de seleção dos estudos da presente revisão sistemática.

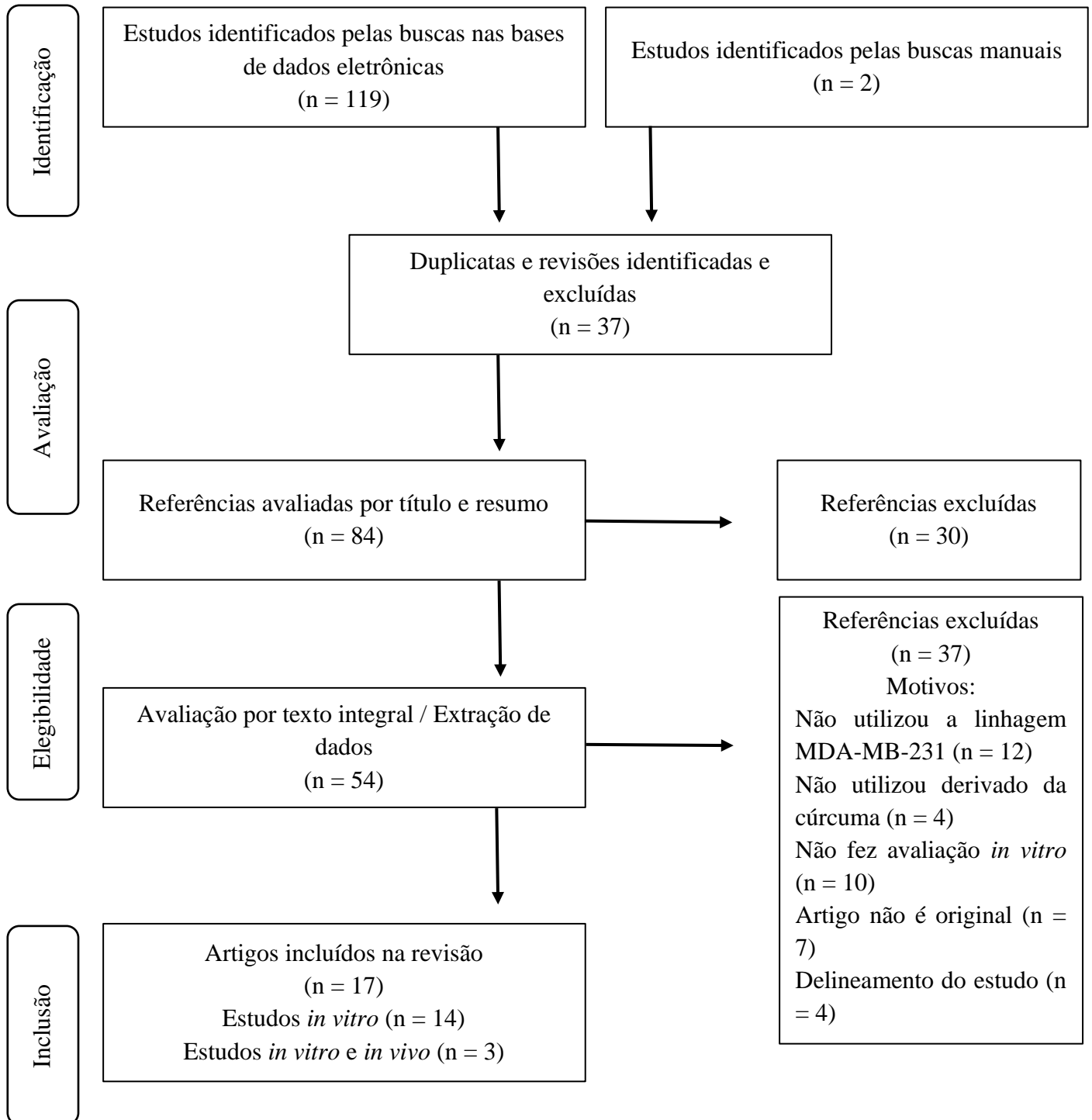


Tabela 1- Estudos originais com avaliação *in vitro*, relacionando curcumina e linhagem celular MDA-MB-231.

Autores e ano	Derivado	Linhagens	Via celular	Efeito
BAGHI et al., 2018	DNC (Nanocurcumina dendrosomal) 95% - 20 e 25µM	MDA-MB-231	Proliferação, apoptose e migração	Suprimiu a proliferação de MDA-MB-231 (tempo e dose dependente), aumentou apoptose e diminui migração, reduziu significativamente a expressão dos níveis de transcrição de ZEB1 e BMI1
BOONRAO et al., 2010	Curcumina, DMC (demetoxicurcumina) e BDMC-A (análogo da curcumina) 20µM	MDA-MB-231, NIH3T3 e MCF-7	Secreção de MMP-3	Inibição significativa da invasão celular e da migração para áreas feridas; na presença de DMC e BDMC o nível de MMP-3 foi acentuadamente diminuído, enquanto a Curcumina diminuiu ligeiramente a secreção de MMP-9;
CALAFI et al., 2018	Curcumina 30µM	MCF-10F, Alpha5, Tumor2, MDA-MB-231 e MCF-7	Expressão de CD44 e CD24	Diminuiu a expressão do gene CD44 em MDA-MB-231, aumentou CD44 + / CD24 + e diminuiu subpopulações CD44 + / CD24- em células MDA-MB-231
ESKILER et al., 2019	Curcumina 5-100µM	MCF-7 e MDA-MB-231	Via de sinalização TRIF mediada por TLR4	Supressão de viabilidades de células de câncer de mama e ativação da via de sinalização de TRIF mediada por TLR4 pela regulação negativa dos níveis de expressão de TLR4 e IRF3 e a inibição dos níveis de IFN tipo I (IFN- α / β) induzidos por LPS.
HU et al., 2018	Curcumina 99,5%	MCF-7 e MDA-MB-231	Proliferação, formação de colônia, migração e invasão	Exibiu atividades antiproliferativas e inibidoras da formação de colônias nas linhas celulares MCF-7 e MDA-MB-231. Também suprimiu a migração e invasão de células MDA-MB-231. A subpopulação CD44 + CD24- / baixa foi maior nas mamoesferas quando as células aderentes MCF-7 e MDA-MB-231 foram cultivadas com meio sem soro.
HUANG et al., 2012	Curcumina 20µM	MCF-7 e MDA-MB-231	Via de sinalização NF-kB-Snail	Inibição da motilidade celular e invasividade por meio da diminuição da expressão de marcadores de EMT induzidos por LPS;
KANG et al., 2009	Curcumina 10µM	MDA-MB-231	Complexo proteico NF-kB	Inibição significativa do crescimento celular; indução de apoptose; redução significativa do tamanho do tumor e da proliferação de células tumorais; diminuição da expressão de MMP-9;
KRONSKI et al., 2014	Curcumina 25mM	MDA-MB-231	Expressão de miRNAs (miR181b)	Modulação da expressão de miRNA e consequente modulação negativa das citocinas pró-inflamatórias CXCL1 e CXCL2 (efeito antimetastático); Indução da apoptose e necrose das células cancerosas; Inibição da expressão de MMPs em células metastáticas; Prejuízo na capacidade invasiva das células cancerosas;
PALANGE et al., 2012	Curcumina 1-40µM	SK-BR-3, MDA-MB-231, MDA-MB-468	Via de sinalização NF-kB	Diminuição e prevenção da ocorrência de metástases; redução da adesão de CTCs na vascularização secundária
PALANGE et al., 2014	NANOCur (polímero lipídico de nanopartículas de curcumina encapsuladas) 10, 20 e 40mM	MDA-MB-231 e HUVECS	Expressão de ICAM-1 e MUC-1	As células tumorais MDA-MB-231 são mais resistentes à NANOCur do que as HUVECs; NANOCur apresenta menor toxicidade celular do que o tratamento com curcumina livre; Promoveu modulação da expressão de ICAM-1 e MUC-1 em endotélio inflamado e redução na propensão à adesão vascular; além de aumento na velocidade de rolamento;
PRASAD et al., 2010	Curcumina 20M	MCF-7 e MDA-MB-231	Expressão de maspina e Bcl-2	Inibiu o crescimento celular, induziu apoptose e regulou positivamente a expressão das proteínas supressoras maspina e proteína p53, além de promover regulação negativa de Bcl-2.
WANG et al., 2019	WZ35 (análogo da curcumina) 5, 10 e 20 ug/mL	MDA-MB-231 e Hs578T	Via de sinalização ROS-YAP-JNK	Redução de N-caderina, MMP-2 e MMP-9; aumento de E-caderina.
WRIGHT et al., 2013	Curcumina, desmetoxicurcumina, bis-desmetoxicurcumina e curcuminóides 34 e 52%	MDA-MB-231	Crescimento celular e secreção de PTHrP	Inibiu o crescimento celular e secreção de PTHrP osteolítico
YODKEEREE et al., 2010	DMC (demetoxicurcumina)	MDA-MB-231 e NIH3T3	Via NF-kB e expressão de uPA, uPAR e MT1-MMP	Inibiu a invasão e a motilidade das células MDA-MB-231; reduziu a adesão celular ao matrigel, fibronectina e laminina, reduzindo a aderência celular à membrana basal; reduziu significativamente a expressão de proteínas associadas à degradação de ECM; reduziu a expressão das proteínas ICAM-1 e CXCR4; inibiu a atividade de ligação ao DNA de NF-kB; reduziu os níveis de p65 (NF-kB) no núcleo, mas não no citosol;

Tabela 2 - Estudos originais com avaliação *in vitro* e *in vivo*, relacionando curcumina e linhagem celular MDA-MB-231.

Autores e ano	Derivado	Linhagens	Via de administração e dose	Via celular	Efeito
BACHMEIER et al., 2006	Curcumina 95% - 25 μ M	In vitro: MDA-MB-231 In vivo: camundongos CD-1 Foxn1nu fêmeas inoculados intracardíacos com MDA-MB-231	Via oral (Teklad 2019 + curcumina 1%)	Via NF κ B	Induziu apoptose das células MDA-MB-231, reduziu expressão das metaloproteinases de matriz e número significativamente menor de metástases pulmonares em camundongos imunodeficientes após injeção intercardíaca de células 231
LUAN et al., 2017	Curcumina 10 μ M	In vitro: MCF-10A, MCF-7 e MDA-MB-231 In vivo: camundongos nus fêmeas portadoras de células cancerosas MDA-MB-231	Via subcutânea (0,1g/kg)	mRNA Ki-67 e uPA	Diminuição da proliferação e invasão de células cancerosas
WRIGHT et al., 2013a	Curcumina 98%	In vivo: camundongos inoculados com MDA-MB-231 In vitro: MDA-MB-231	Via intraperitoneal (25-50mg/kg; 21 dias)	Fator de crescimento PTHrP estimulado pela via de sinalização TGF- β	Inibiu o estímulo da via TGF- β de secreção de PTHrP por células de câncer de mama MDA-MB-231; impediu o desenvolvimento de lesões osteolíticas, sem alterar a área do tumor dentro do osso;

Tendo em vista os estudos analisados para esta revisão, pode-se afirmar que o meio de cultura mais utilizado para o cultivo das linhagens celulares foi o meio *Dulbecco Minimal Essential Medium* (DMEM), associado à suplementação das placas com soro fetal bovino (FBS) e antibióticos (penicilina e estreptomicina). Este meio, fornecido nas formas de pó ou líquido, é composto por uma mistura de sais enriquecidos com aminoácidos e outros elementos essenciais para o crescimento celular de linhagens humanas e de outros animais. Na forma em pó, tem a vantagem de se manter estável por mais de 24 meses se conservado em ambiente e temperatura adequados, além da vantagem da constância de resultados quando se programam culturas celulares a longo prazo, utilizando nesse caso um mesmo lote (ATENA, 2021).

O ensaio de invasão em câmara de Boyden, bem como os ensaios em placas de Transwell foram os métodos de análise citológica mais empregados nos estudos selecionados para esta revisão. A câmara de Boyden, apesar de inicialmente ser projetada para estudar a quimiotaxia de leucócitos, tornou-se uma das ferramentas mais utilizadas para avaliar a motilidade e invasão celular. Este método consiste em dois compartimentos separados por uma membrana que representa uma barreira física que as células podem superar apenas por migração ativa. O método pode ser adaptado para estudar as propriedades invasivas das células tumorais revestindo a membrana com diferentes proteínas da matriz extracelular (FALASCA; RAIMONDI; MAFFUCCI, 2011). O ensaio de migração celular *transwell*, por sua vez, mede a capacidade quimiotática de células em direção a um quimioatrativo. O ensaio de invasão celular *transwell*, diferentemente, mede tanto a quimiotaxia como a invasão celular através da matriz extracelular, processo comumente encontrado em metástase do câncer ou em desenvolvimento embrionário (JUSTUS et al., 2014).

Para avaliação da viabilidade celular da linhagem MDA-MB-231, o ensaio mais utilizado foi o ensaio colorimétrico MTT. A técnica de MTT mede a viabilidade celular com base no dano induzido nas mitocôndrias, o princípio deste método é a avaliação da atividade de desidrogenases mitocondriais, quantificadas pela redução do MTT (um sal de coloração amarela solúvel em água) à formazan (cristais de coloração púrpura, insolúveis em água) (LI & SONG, 2007 apud SILVA et al., 2013).

Um maior detalhamento dos materiais e métodos utilizados, pelos trabalhos avaliados nesta revisão, é apresentado na Tabela 3.

Tabela 3 - Materiais e métodos utilizados no estudos originais com avaliação *in vitro* e *in vivo*, relacionando curcumina e linhagem celular MDA-MB-231.

Autores e ano	Cultura	Ensaio
BACHMEIER et al., 2006	DMEM + 10% SFB + penicilina/estreptomicina + aminoácidos não essenciais	Ensaio de invasão Zimografia
BAGHI et al., 2018	Meio RPMI + 10% SFB + penicilina/estreptomicina	Ensaio de proliferação, apoptose e migração Ensaio de câmara de Boyden modificado
BOONRAO et al., 2010	Meio Leibovitz + 10% SFB + penicilina/estreptomicina	Ensaio de motilidade de cicatrização de feridas
CALAFI et al., 2018	Meio RPMI-1640	Expressão de CD44 e CD24
ESKILER et al., 2019	DMEM + 10% SFB + penicilina/estreptomicina + LPS	Expressão de TLR4
HU et al., 2018	DMEM + 10% SFB + penicilina/estreptomicina	Ensaio de proliferação, formação de colônia, migração e invasão
HUANG et al., 2012	DMEM + 10% SFB + penicilina/estreptomicina + aminoácidos não essenciais	Ensaio MTT Ensaio de invasão celular
KANG et al., 2009	DMEM + Paclitaxel	Anticorpo anti-NF-kB Imuno-histoquímica de PCNA e MMP-9 Avaliação de apoptose por DAPI
KRONSKI et al., 2014	DMEM + 10% SFB + penicilina/estreptomicina	Viabilidade por azul de tripan Ensaio de invasão Transwell
LUAN et al., 2017	DMEM + nanossondas + Tamoxifeno	Ensaio CCK-8 Ensaio MTT Ensaio de proliferação baseado em CSFE
PALANGE et al., 2012	-	Ensaio de proliferação XTT Análise de microscopia confocal
PALANGE et al., 2014	-	Citometria de fluxo para acúmulo de curcumina Ensaio proliferativo XTT
PRASAD et al., 2010	-	Expressão de maspina Ensaio CCK-8
WANG et al., 2019	DMEM + 10% SFB + penicilina/estreptomicina	Citometria de fluxo Ensaio de invasão Transwell
WRIGHT et al., 2013	DMEM + 10% SFB + penicilina/estreptomicina + TGF- β 1	Secreção de PTHrP
WRIGHT et al., 2013a	DMEM + 10% SFB + penicilina/estreptomicina + TGF- β 1	Secreção de PTHrP Ensaio MTT
YODKEEREE et al., 2010	DMEM + 10% SFB + penicilina/estreptomicina	Secreção de LDH Ensaio MTT

Os trabalhos que avaliam o efeito antitumoral da cúrcuma fazem uso principalmente da curcumina, sendo este o principal curcuminóide presente na espécie e o que possui os efeitos biológicos mais relevantes. De modo geral, os estudos adquirem extratos industrializados e purificados do rizoma, com pureza, na grande maioria das vezes, superior a 95%, sendo que, somente no trabalho de Wright et al. foi relatada uma diluição com rendimentos e purezas

relativamente baixos (34 e 52%), visto que neste trabalho o extrato foi produzido pelos próprios pesquisadores. Em relação à concentração da curcumina que é utilizada para tratamento das linhagens celulares, a diluição encontrada na literatura variou de 5 até 100 μ M, porém, as concentrações mais utilizadas na maioria dos trabalhos foi 20 e 25 μ M, sendo que nesta dose o curcuminóide não apresenta efeitos citotóxicos para as células saudáveis, apresentando somente seus efeitos biológicos nas células tumorais do câncer de mama.

Na Tabela 4, é descrito de forma, a diluição e o tratamento dos compostos empregados nos estudos incluídos na presente revisão.

Tabela 4 - Diluição e tratamento da curcumina utilizada nos estudos originais com avaliação *in vitro* e *in vivo*, relacionando curcumina e linhagem celular MDA-MB-231.

Autor	Derivado	Diluição	Tratamento
BACHMEIER et al., 2006	Curcumina	Pureza: 95%	25 μ M
BAGHI et al., 2018	Curcumina	Pureza > 95%	25 μ M e 20 μ M em 24 e 48 horas
BOONRAO et al., 2010	Curcumina, DMC (demetoxicurcumina) e BDMC-A (análogo da curcumina)	-	20 μ M
CALAFI et al., 2018	Curcumina	-	30 μ M por 48h
ESKILER et al., 2019	Curcumina	-	5, 10, 25, 50, 100 μ M + LPS 2 μ M por 24 e 48h
HU et al., 2018	Curcumina	Pureza > 99,5%	Células aderentes e mamosferas
HUANG et al., 2012	Curcumina	-	20 μ M
KANG et al., 2009	Curcumina	-	25 μ M
KRONSKI et al., 2014	Curcumina	Pureza: 95%	25 μ M
LUAN et al., 2017	Curcumina	-	10 μ M
PALANGE et al., 2012	Curcumina	-	1, 10, 20 e 40 μ M
PALANGE et al., 2014	NANOCur (polímero lipídico de nanopartículas de curcumina encapsuladas)	-	10, 20 e 40 μ M
PRASAD et al., 2010	Curcumina	-	20 μ M por 3, 6 e 12h
WANG et al., 2019	Curcumina e WZ35 (análogo da curcumina)	-	5, 10 e 20 μ g/mL por 24, 48 e 72h
WRIGHT et al., 2013	Curcumina, desmetoxicurcumina, bis-desmetoxicurcumina e curcuminóides	Pureza de 34 e 52%, respectivamente	-
WRIGHT et al., 2013a	Curcumina	Pureza > 98%	-
YODKEEREE et al., 2010	Demetoxicurcumina	-	-

Em relação aos efeitos da curcumina sobre a linhagem celular MDA-MB-231, principal objetivo da presente revisão, as evidências levantadas demonstram efeitos antiproliferativos, pró-apoptóticos, anti-metastáticos e anti-inflamatórios do composto sobre células do câncer de mama, por diversas vias e mecanismos diferentes. Tais efeitos são apresentados e discutidos mais detalhadamente adiante.

4 DISCUSSÃO

A curcumina tem apresentado potencial como um dos compostos farmacobotânicos mais promissores para o tratamento do câncer, especialmente do câncer de mama. As evidências presentes na literatura indicam sua importante atividade na supressão de diversas vias, marcadores e substâncias essenciais para o desenvolvimento e progressão do câncer em nível celular e molecular. Os estudos avaliados investigaram, por diferentes mecanismos, como ocorre a interação desse composto vegetal com as células e vias no microambiente tumoral, bem como seus possíveis efeitos tóxicos e biológicos sistêmicos.

Dentre as principais evidências levantadas, destacam-se os resultados dos estudos de Hu et al. (2018), Yodkeeree et al. (2010), Baghi et al. (2018), Boonrao et al. (2010) e Palange et al. (2012), demonstrando que quando as células tumorais MDA-MB-231 são tratadas com curcumina, há uma redução significativa na motilidade celular (que é necessária para a migração do local primário para um local secundário), na capacidade de invasão das células através da membrana basal (comprovando o efeito inibitório na invasão do câncer por meio da degradação reduzida da matriz extracelular e diminuição da expressão e atividade de várias metaloproteinases de matriz), na capacidade de adesão celular à membrana basal, além de inibir o crescimento e a proliferação das células do câncer de mama de modo dose e tempo-dependente. Esses dados demonstram que a curcumina possui efeitos anti-metástases em células tumorais altamente metastáticas, inibe a migração e invasão celular, o que pode estar relacionado com a resistência celular a caracteres *stem-like* e ao processo EMT (*epithelial-mesenchymal transition*), efeito também demonstrado nos estudos de Huang et al. (2012) e Wang et al. (2013). A eficácia da curcumina inibindo propriedades *stem-like* e regulando o processo de EMT, foi relatada pela primeira vez na literatura nestes trabalhos. Estes dados fornecem uma base teórica para a possibilidade da curcumina (e derivados, como a demetoxicurcumina) ser empregada como agente anti-metastático para câncer de mama e, portanto, pode ser vantajoso na prevenção e tratamento de recidivas e metástases.

Ademais, também foram demonstrados outros efeitos promissores da curcumina como substância com atividade antitumoral. No estudo de Wright et al. (2013), os pesquisadores demonstraram claramente a capacidade única dos compostos fenólicos derivados da cúrcuma de inibir o crescimento das células do câncer de mama e a secreção de importantes fatores osteolíticos que conduzem as metástases ósseas do câncer de mama avançado. Os efeitos inibidores de crescimento dos curcuminóides no câncer de mama foram anteriormente

atribuídos ao seu direcionamento ao ciclo celular e/ou vias celulares apoptóticas comprovando um efeito pró-apoptótico, ao invés de um efeito antiproliferativo. O estudo, entretanto, comparou diferentes curcuminóides e demonstrou que todos foram equipotentes no bloqueio da secreção de PTHrP (que tem sido reconhecido como um dos principais contribuintes para a patogênese de complicações esqueléticas no câncer de mama), com valores de $IC_{50} \geq 5$ vezes menores do que os necessários para induzir a morte celular. O estudo demonstrou uma potência igual ou maior da mistura de curcuminóides vs. compostos isolados, indicando uso de misturas como potenciais quimioterápicos no câncer de mama. Claramente, no entanto, essas descobertas apontam novamente para os curcuminóides derivados da cúrcuma como os mais potentes de uma série de compostos fenólicos de ocorrência botânica natural e estruturalmente relacionados com potencial atividade anti-câncer de mama.

Em um segundo estudo publicado pelo mesmo grupo, no mesmo ano (WRIGHT et al., 2013a), os pesquisadores corroboram com os resultados anteriores e avaliaram o efeito do TGF- β , um fator de crescimento essencial para a progressão tumoral, na secreção de PTHrP e as complicações ósseas do câncer de mama metastático. Eles demonstraram em seu estudo que a secreção de PTHrP estimulada por TGF- β nas células MDA-MB-231 foi inibida de forma dose-dependente por curcuminóides. Os curcuminóides inibiram a secreção de PTHrP estimulada por TGF- β com metade da concentração inibitória máxima que foi inferior a concentração mínima efetiva para inibição da viabilidade celular e indução de citotoxicidade, indicando que os efeitos inibitórios na secreção de PTHrP são independentes de mudanças no crescimento das células tumorais. O tratamento *in vivo*, com curcuminóides de baixa e alta dose atenuou a lise óssea em relação aos controles tratados com veículo, diminuindo a área de lesão óssea lítica. As doses de 25 e 50 mg/kg de curcuminóides administrados intraperitonealmente nos camundongos em dias alternados não tiveram efeitos tóxicos nos sistemas renais, hepáticos ou hematopoiéticos de camundongos avaliados pelo peso corporal, peso do fígado, alanina aminotransferase, peso do baço, número de glóbulos brancos, plaquetas e hematócrito. A proteção óssea conferida pelos curcuminóides demonstrou pela primeira vez na literatura seu potente efeito inibitório na secreção de PTHrP por células de câncer de mama humano pela via de sinalização TGF- β -Smad em células MDA-MB-231.

Outro efeito importante para inclusão da substância como um potencial quimioterápico é a avaliação de sua atividade inibitória em substâncias e vias que funcionam como um controle positivo para o desenvolvimento tumoral, especialmente vias pró-inflamatórias, uma vez que é bem documentado na literatura que a inflamação sustentada é essencial para o desenvolvimento e progressão de certos tumores. Uma dessas, é a via de sinalização TRIF dependente de TLR4

induzida por lipopolissacarídeo (LPS). Esse efeito foi investigado por Eskiler et al. (2019), que indicaram em seus resultados que a curcumina suprime a atividade de LPS em células de câncer de mama induzindo a morte celular por apoptose, apresenta toxicidade sobre as células tumorais MDA-MB-231, que apresentam morfologia apoptótica típica quando tratadas com curcumina. A curcumina exerceu atividade antagonista de TLR4 em células de câncer de mama por meio de seus efeitos antiinflamatórios e poderia mediar a via de sinalização de TLR4/TRIF/IRF3 e respostas de IFN pela supressão da inflamação estimulada por LPS. Outro efeito anti-inflamatório da curcumina foi demonstrado por Kronski et al. (2014), que apresentou a regulação negativa da substância sobre as citocinas pró-inflamatórias CXCL1 e CXCL2, envolvidas com a capacidade metastática tumoral, diminuindo a sua expressão em pelo menos 2,5 vezes em resposta a tratamento com a curcumina.

Além disso, alguns marcadores celulares estão sendo relacionados à maior progressão e crescimento tumoral, como CD44, que é uma glicoproteína transmembrana do tipo I que regula a adesão celular e as interações célula-célula e as interações célula-matriz extracelular, e CD24, que é expresso em tumores sólidos benignos e malignos e também está envolvido na adesão e metástase celular. No trabalho de Calafi et al. (2018), foi demonstrado o efeito da curcumina sobre tais marcadores, onde a mesma diminui a expressão de CD44, aumenta as subpopulações CD44⁺/CD24⁺ e diminui as subpopulações CD44⁺/CD24⁻ de células. O valor prognóstico desses marcadores no câncer de mama, entretanto, permanece controverso e requer mais pesquisas para elucidação de seu real efeito.

Foi demonstrado que a curcumina reduz a viabilidade celular da linhagem MDA-MB-231, sendo este efeito investigado principalmente por meio do ensaio de MTT, um dos mais utilizados nos estudos analisados. Bachmeier et al. (2006) demonstraram que a curcumina reduziu a viabilidade celular em 50% após apenas 2h de tratamento, sendo que desde os primeiros momentos, as células mostraram evidências claras de apoptose precoce e mais de 70% das células entraram no programa de apoptose em 4h de tratamento com curcumina. Esse trabalho também realizou avaliação dos efeitos *in vivo* da curcumina em camundongos e mostrou que camundongos tratados com curcumina não apresentaram quaisquer efeitos secundários do tratamento e os pesos dos animais dos grupos avaliados eram comparáveis, visto que os tumores de animais tratados e não tratados eram semelhantes em dimensão, morfologia e histologia. Além disso, a curcumina preveniu metástases pulmonares de uma maneira altamente significativa. O número de animais com muito poucas metástases aumentou dramaticamente nos animais tratados em comparação com os animais não tratados. O estudo demonstrou que a curcumina induz apoptose e inibe a expressão e atividade dos fatores de

transcrição levando à diminuição da expressão e atividade de várias metaloproteinases de matriz. Ainda, a curcumina reduziu significativamente o número de metástases formadas a partir de células de câncer de mama injetadas intracardíacamente nos camundongos, demonstrando mais uma vez um possível efeito anti-metástase desse composto.

Dois trabalhos avaliaram os efeitos da curcumina comparados a agentes quimioterápicos bem estabelecidos e empregados na prática clínica. No estudo de Kang et al. (2009) o efeito foi comparado ao paclitaxel e no estudo de Luan et al. (2017) foi comparado ao tamoxifeno. Kang et al. (2009) demonstraram que tanto a curcumina quanto o paclitaxel inibiram o crescimento tumoral e promoveram aumento da morte celular, além de diminuir a expressão de MMP-9, apontada como contribuinte para a progressão tumoral, angiogênese e invasão celular. Entretanto, a combinação dos dois agentes se mostrou mais efetiva quando comparada aos agentes isolados, de forma dose e tempo-dependente. Já o trabalho de Luan et al. (2017), comprovou que a curcumina apresenta efeito comparável ao tamoxifeno na redução da proliferação celular da linhagem MDA-MB-231 por meio da via Ki-67.

A principal desvantagem do uso clínico da curcumina é a biodisponibilidade muito baixa e má biodistribuição da substância, principalmente devido a sua má absorção gastrointestinal, metabolismo e rápida eliminação. Diversos esforços têm sido feitos para aumentar a biodisponibilidade do composto, especialmente quando administrado por via oral. Nesse intuito, Palange et al. (2014) desenvolveram um forma farmacêutica de curcumina designada NANOCur, que se trata de um polímero lipídico de nanopartículas de curcumina encapsuladas. Eles evidenciaram a captação celular de NANOCur e a progressiva liberação da curcumina no organismo, sendo esta mais facilmente e rapidamente internalizada por células endoteliais estimuladas com TNF- α , apoiando a ideia de que o polímero se acumularia preferencialmente na área inflamada das células endoteliais, em comparação com a vasculatura normal. O tratamento com NANOCur apresentou menor toxicidade celular se comparado ao tratamento com a curcumina livre, isso é atribuído à diferente disponibilidade e farmacodinâmica dos compostos, enquanto a curcumina livre é imediatamente fornecida às células, NANOCur deve primeiro ser internalizado pelas células, para então sua matriz polimérica se degradar progressivamente, liberando lentamente a curcumina ao longo do tempo, que é eventualmente metabolizada. Neste mesmo sentido, Wang et al. (2013) investigaram os efeitos do WZ35, um análogo sintético da curcumina desenvolvida pelos pesquisadores, quando comparados à curcumina natural. Eles comprovaram que o WZ35 reduz significativamente a taxa de sobrevivência celular, de maneira dose-dependente, e com efeitos antiproliferativos mais fortes do que a curcumina. O composto inibiu a proliferação da linhagem MDA-MB-231 em baixas

concentrações, bem como aumentou de forma expressiva a proporção de células na fase G2/M em comparação com o grupo controle e grupo tratado com curcumina. O estudo também aponta que o tratamento de células com o WZ35 aumentou significativamente a proporção de células em apoptose em comparação com a curcumina e com o grupo controle. Além disso, o tratamento de células com o WZ35 reduziu significativamente o número de colônias da linhagem MDA-MB-231, bem como a migração e a capacidade invasiva destas células. O WZ35 mostrou efeito anti-migratório e anti-habilidade invasiva mais forte do que a curcumina. Tais evidências apontam para possíveis formulações farmacêuticas que tornariam os efeitos biológicos deste composto vegetal mais eficazes e efetivos em um potencial uso clínico futuro.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados apresentados na presente revisão sistemática demonstram ações e efeitos da curcumina e derivados sobre células tumorais do câncer de mama metastático, utilizando como modelo experimental a linhagem celular MDA-MB-231.

As evidências demonstram que a metodologia mais utilizada para avaliar a viabilidade da linhagem celular foi o ensaio de MTT. A diluição que mais prevalece na literatura é a curcumina purificada da cúrcuma com pureza superior a 95%, e o tratamento mais utilizado para avaliar os efeitos sobre a linhagem celular é na concentração de 20 μ M.

Os dados confirmam os efeitos antiproliferativos, pró-apoptóticos, anti-metastáticos e anti-inflamatórios dos compostos fenólicos derivados da *Curcuma longa*, especialmente a curcumina, principal curcuminoide extraído da espécie.

Com esse embasamento, a partir de resultados em nível laboratorial, é possível analisar a segurança e o potencial terapêutico da curcumina em estudos que utilizam modelos animais e subsequentemente, em ensaios clínicos com seres humanos com diagnóstico de câncer de mama, em especial com estágio IV da doença.

REFERÊNCIAS

- BACHMEIER, Beatrice; NERLICH, Andreas; IANCU, Cristina; CILLI, Michele; SCHLEICHER, Erwin; VENÉ, Roberta; DELL'EVA, Raffaella; JOCHUM, Marianne; ALBINI, Adriana; PFEFFER, Ulrich. The Chemopreventive Polyphenol Curcumin Prevents Hematogenous Breast Cancer Metastases in Immunodeficient Mice. **Cellular Physiology And Biochemistry**, [S.L.], v. 19, n. 1-4, p. 137-152, 2007. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000099202>.
- BAGHI, Narges; BAKHSHINEJAD, Babak; KESHAVARZ, Reihaneh; BABASHAH, Sadeq; SADEGHIZADEH, Majid. Dendrosomal nanocurcumin and exogenous p53 can act synergistically to elicit anticancer effects on breast cancer cells. **Gene**, [S.L.], v. 670, p. 55-62, set. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2018.05.025>.
- BLEWEISS, Ira. Pathology of breast cancer. **UpToDate**. Disponível em: <<https://www.uptodate.com/contents/pathology-of-breast-cancer>> Acesso em: 5 ago. 2020.
- BOONRAO, Mathanaporn; YODKEEREE, Supachai; AMPASAVATE, Chadarat; ANUCHAPREEDA, Songyot; LIMTRAKUL, Pornngarm. The inhibitory effect of turmeric curcuminoids on matrix metalloproteinase-3 secretion in human invasive breast carcinoma cells. **Archives Of Pharmacal Research**, [S.L.], v. 33, n. 7, p. 989-998, jul. 2010. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12272-010-0703-6>.
- CALAF, Gloria; PONCE-CUSI, Richard; ABARCA-QUINONES, Jorge. Effect of curcumin on the cell surface markers CD44 and CD24 in breast cancer. **Oncology Reports**, [S.L.], p. 327-345, 20 abr. 2018. Spandidos Publications. <http://dx.doi.org/10.3892/or.2018.6386>.
- ESKILER, Gamze Güney; ÖZKAN, Asuman Deveci; KALELI, Süleyman; BILIR, Cemil. Inhibition of TLR4/TRIF/IRF3 Signaling Pathway by Curcumin in Breast Cancer Cells. **Journal Of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**, [S.L.], v. 22, p. 281-291, 5 jul. 2019. University of Alberta Libraries. <http://dx.doi.org/10.18433/jpps30493>.
- FALASCA, Marco; RAIMONDI, Claudio; MAFFUCCI, Tania. Boyden Chamber. **Methods In Molecular Biology**, [S.L.], p. 87-95, 2011. Humana Press. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-61779-207-6_7.
- FOUKAKIS, Theodoros; BERGH, Jonas. Prognostic and predictive factors in early, non-metastatic breast cancer. **UpToDate**. Disponível em: <<https://www.uptodate.com/contents/prognostic-and-predictive-factors-in-early-non-metastatic-breast-cancer>> Acesso em: 5 ago. 2020.
- GIORDANO; T. Curcumin and Cancer. **Nutrients**, [S.L.], v. 11, n. 10, p. 2376-2395, 5 out. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/nu11102376>.
- HU, Chenxia; LI, Mengjie; GUO, Tingting; WANG, Shaoxi; HUANG, Weiping; YANG, Ke; LIAO, Zhiwei; WANG, Jian; ZHANG, Fengxue; WANG, Hongqi. Anti-metastasis activity of curcumin against breast cancer via the inhibition of stem cell-like properties and EMT. **Phytomedicine**, [S.L.], v. 58, p. 152740, maio 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2018.11.001>.

HUANG, Tao; CHEN, Zhijun; FANG, Liping. Curcumin inhibits LPS-induced EMT through downregulation of NF- κ B-Snail signaling in breast cancer cells. **Oncology Reports**, [S.L.], v. 29, n. 1, p. 117-124, 16 out. 2012. Spandidos Publications. <http://dx.doi.org/10.3892/or.2012.2080>.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). **Estimativa 2020**: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2019. 117 p.

JUSTUS, C. R., Leffler, N., Ruiz-Echevarria, M., Yang, L. V. In vitro Cell Migration and Invasion Assays. *J. Vis. Exp.* (88), e51046, doi:10.3791/51046 (2014).

KANG, Hee Joon; LEE, Sang Hun; PRICE, Janet E.; KIM, Lee Su. Curcumin Suppresses the Paclitaxel-Induced Nuclear Factor- κ B in Breast Cancer Cells and Potentiates the Growth Inhibitory Effect of Paclitaxel in a Breast Cancer Nude Mice Model. **The Breast Journal**, [S.L.], v. 15, n. 3, p. 223-229, maio 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1524-4741.2009.00709.x>.

KRONSKI, Emanuel; FIORI, Micol E.; BARBIERI, Ottavia; ASTIGIANO, Simonetta; MIRISOLA, Valentina; KILLIAN, Peter H.; BRUNO, Antonino; PAGANI, Arianna; ROVERA, Francesca; PFEFFER, Ulrich. MiR181b is induced by the chemopreventive polyphenol curcumin and inhibits breast cancer metastasis via down-regulation of the inflammatory cytokines CXCL1 and -2. **Molecular Oncology**, [S.L.], v. 8, n. 3, p. 581-595, 16 jan. 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molonc.2014.01.005>.

LUAN, Mingming; YU, Longhai; LI, Yanhua; PAN, Wei; GAO, Xiaonan; WAN, Xiuyan; LI, Na; TANG, Bo. Visualizing Breast Cancer Cell Proliferation and Invasion for Assessing Drug Efficacy with a Fluorescent Nanoprobe. **Analytical Chemistry**, [S.L.], v. 89, n. 19, p. 10601-10607, 21 set. 2017. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.analchem.7b03146>.

PALANGE, Anna L.; MASCOLO, Daniele di; CARALLO, Claudio; GNASSO, Agostino; DECUZZI, Paolo. Lipid-polymer nanoparticles encapsulating curcumin for modulating the vascular deposition of breast cancer cells. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, [S.L.], v. 10, n. 5, p. 991-1002, jul. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nano.2014.02.004>.

PALANGE, Anna L.; MASCOLO, Daniele di; SINGH, Jaykrishna; FRANCESCHI, Maria S. de; CARALLO, Claudio; GNASSO, Agostino; DECUZZI, Paolo. Modulating the vascular behavior of metastatic breast cancer cells by curcumin treatment. **Frontiers In Oncology**, [S.L.], v. 2, p. 327-345, 2012. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fonc.2012.00161>.

PRASAD, Chandra P.; RATH, Gayatri; MATHUR, Sandeep; BHATNAGAR, Dinesh; RALHAN, Ranju. Expression analysis of maspin in invasive ductal carcinoma of breast and modulation of its expression by curcumin in breast cancer cell lines. **Chemico-Biological Interactions**, [S.L.], v. 183, n. 3, p. 455-461, fev. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2009.11.019>.

WANG, Lihua; WANG, Canwei; TAO, Zheyang; ZHAO, Liqian; ZHU, Zheng; WU, Wencan; HE, Ye; CHEN, Hong; ZHENG, Bin; HUANG, Xiangjie. Curcumin derivative

WZ35 inhibits tumor cell growth via ROS-YAP-JNK signaling pathway in breast cancer. **Journal Of Experimental & Clinical Cancer Research**, [S.L.], v. 38, n. 1, p. 1-10, 8 nov. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13046-019-1424-4>.

WRIGHT, Laura E.; FRYE, Jennifer B.; LUKEFAHR, Ashley L.; TIMMERMANN, Barbara N.; MOHAMMAD, Khalid S.; GUISE, Theresa A.; FUNK, Janet L.. Curcuminoids Block TGF- β Signaling in Human Breast Cancer Cells and Limit Osteolysis in a Murine Model of Breast Cancer Bone Metastasis. **Journal Of Natural Products**, [S.L.], v. 76, n. 3, p. 316-321, 12 nov. 2012. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/np300663v>.

WRIGHT, Laura; FRYE, Jen; GORTI, Bhavana; TIMMERMANN, Barbara; FUNK, Janet. Bioactivity of Turmeric-derived Curcuminoids and Related Metabolites in Breast Cancer. **Current Pharmaceutical Design**, [S.L.], v. 19, n. 34, p. 6218-6225, 1 set. 2013. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/1381612811319340013>.

YODKEEREE, Supachai; AMPASAVATE, Chadarat; SUNG, Bokyung; AGGARWAL, Bharat B.; LIMTRAKUL, Pornngarm. Demethoxycurcumin suppresses migration and invasion of MDA-MB-231 human breast cancer cell line. **European Journal Of Pharmacology**, [S.L.], v. 627, n. 1-3, p. 8-15, fev. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2009.09.052>.

ZHANG, Huang-Ge et al. Curcumin reverses breast tumor exosomes mediated immune suppression of NK cell tumor cytotoxicity. **Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - Molecular Cell Research**, [S.L.], v. 1773, n. 7, p. 1116-1123, jul. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamcr.2007.04.015>.