

Efeitos do sulforafano sobre células cancerígenas da mama

Effects of sulforaphane on breast cancer cells

Efectos del sulforafano en las células de cáncer de seno

Recebido: 28/05/2020 | Revisado: 09/06/2020 | Aceito: 15/06/2020 | Publicado: 28/06/2020

Leticya Thaís Mendes Viana

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9707-0931>

Universidade Federal do Piauí, Brasil

E-mail: leticyathais16@hotmail.com

Betânia de Jesus e Silva de Almendra Freitas

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7797-735X>

Universidade Federal do Piauí, Brasil

E-mail: betaniafreitas2004@yahoo.com.br

Resumo

Há evidências científicas de que o sulforafano (SFN), um componente alimentar derivado de vegetais crucíferos, mostrou ser eficaz na prevenção contra o câncer de mama. O objetivo do estudo é analisar evidências na literatura em relação aos efeitos do SFN em células cancerígenas da mama. Trata-se de uma revisão integrativa da literatura conduzida de acordo com as recomendações “PRISMA”, realizada por meio da pesquisa de artigos originais, com limite de 10 anos de publicação, em inglês e português, indexados na base de dados PubMed, Science Direct e Cochrane. Foram encontrados 1985 artigos na busca preliminar e 13 foram incluídos, após o processo de seleção e remoção de artigos duplicados e ilegíveis. Constatou-se que 69,2% (n=9) dos estudos demonstraram que o SFN reduziu a viabilidade, 53,9% (n=7) verificaram indução de apoptose, 7,7% (n=1) avaliou a expressão de *hTERT* e constatou sua inibição após o tratamento. A expressão do gene pró-apoptótico BAX e do gene anti-apoptótico BCL-2 foram avaliados em 38,46% (n=5) dos estudos onde foi possível verificar que 23% (n=3) relataram indução de BAX e 38,46% (n=5) reduziram o nível de BCL-2. Conclui-se que os resultados reforçam os benefícios do SFN como um composto com efeitos preventivos no câncer de mama. Apesar disso, ressalta-se a necessidade da realização de mais pesquisas que permitam maiores esclarecimentos sobre a temática proposta, bem como a questão de dosagem e melhora de resultados clínicos.

Palavras-chave: Glucosinolatos; Câncer de mama; Brócolis; Epigenética.

Abstract

There is scientific evidence that sulforaphane (SFN), a food component derived from cruciferous vegetables, has been shown to be effective in preventing breast cancer. The aim of the study is to analyze evidence in the literature regarding the effects of SFN on breast cancer cells. This is an integrative literature review conducted in accordance with the "PRISMA" recommendations, carried out by searching for original articles, with a limit of 10 years of publication, in English and Portuguese, indexed in the PubMed database, Science Direct and Cochrane. 1985 articles were found in the preliminary search and 13 were included, after the process of selection and removal of duplicate and ineligible articles. It was found that 69.2% (n = 9) of the studies demonstrated that the SFN reduced viability, 53.9% (n = 7) verified induction of apoptosis, 7.7% (n = 1) evaluated the expression of hTERT and found its inhibition after treatment. The expression of the pro-apoptotic gene BAX and the anti-apoptotic gene BCL-2 were evaluated in 38.46% (n = 5) of the studies where it was possible to verify that 23% (n = 3) reported BAX induction and 38, 46% (n = 5) reduced the level of BCL-2. It is concluded that the results reinforce the benefits of SFN as a compound with preventive effects in breast cancer. In spite of this, the need to conduct more research is highlighted, which allows further clarification on the proposed theme, as well as the question of dosage and improvement of clinical results.

Keywords: Glucosinolates; Breast cancer; Broccoli; Epigenetics.

Resumen

Existe evidencia científica de que el sulforafano (SFN), un componente alimenticio derivado de vegetales crucíferos, ha demostrado ser efectivo para prevenir el cáncer de seno. El objetivo del estudio es analizar la evidencia en la literatura sobre los efectos de SFN en las células de cáncer de mama. Esta es una revisión bibliográfica integradora realizada de acuerdo con las recomendaciones "PRISMA", realizada mediante la búsqueda de artículos originales, con un límite de 10 años de publicación, en inglés y portugués, indexados en la base de datos PubMed, Science Direct y Cochrane. Se encontraron 1985 artículos en la búsqueda preliminar y se incluyeron 13, después del proceso de selección y eliminación de artículos duplicados y no elegibles. Se encontró que el 69.2% (n = 9) de los estudios demostró que la SFN redujo la viabilidad, el 53.9% (n = 7) verificó la inducción de apoptosis, el 7.7% (n = 1) evaluó la expresión de hTERT y encontró su inhibición después del tratamiento. La expresión del gen proapoptótico BAX y el gen antiapoptótico BCL-2 se evaluó en el 38,46% (n = 5) de los estudios en los que fue posible verificar que el 23% (n = 3) informó la

inducción de BAX y 38, 46% (n = 5) redujo el nivel de BCL-2. Se concluye que los resultados refuerzan los beneficios de SFN como un compuesto con efectos preventivos en el cáncer de seno. A pesar de esto, se enfatiza la necesidad de llevar a cabo más investigaciones que permitan una mayor aclaración sobre el tema propuesto, así como la cuestión de la dosificación y la mejora de los resultados clínicos.

Palabras clave: Glucosinolatos; Cáncer de mama; Brócoli; Epigenética.

1. Introdução

O câncer configura-se como um grave problema de saúde pública, estando entre as principais causas de morte nos cenários nacional e mundial (Gomes, et al., 2020). O câncer de mama é um dos tipos mais comuns entre as mulheres nos países desenvolvidos e em desenvolvimento. Segundo a American Cancer Society, aproximadamente 2 milhões de novos casos de câncer de mama ocorreram em todo mundo em 2018 (Selvakumar, et al., 2020).

No Brasil, a última estimativa do INCA (Instituto Nacional de Câncer) determinou um quantitativo de 66.280 casos de câncer de mama, para o ano de 2020. A suscetibilidade ao câncer de mama está ligada a fatores ambientais, genéticos, hormonais e clínicos, tais como: estilo de vida, alimentação, menopausa, nuliparidade, menarca e gordura visceral (Li, et al., 2018; Nogueira, et al., 2020).

Existe uma demanda constante para desenvolver medicamentos anticancerígenos menos tóxicos, mais eficazes e acessíveis, com efeitos colaterais reduzidos. Nos últimos anos, o uso de estratégias de prevenção dietética ganhou significativo interesse, destacando o consumo de vegetais que está associado a um menor risco de desenvolver câncer (Bagheri, et al., 2020; Mandrich & Caputo, 2020).

Nutrientes e/ou compostos bioativos de alimentos (CBA) destacam-se como importantes agentes preventivos no combate a diversos tipos de cânceres por serem capazes de modular processos biológicos distintos relacionados à carcinogênese e restaurar o estado epigenético normal de oncogenes e genes supressores de tumor (Cozzolino & Cominetti, 2013; Paul, et al., 2018).

Estudos mostram que componentes dietéticos atuando como moduladores epigenéticos, tais como vegetais crucíferos, reduzem o risco de diversos cânceres, incluindo o câncer de mama (Jiang, et al., 2018; Cheng, et al., 2019; Mandrich & Caputo, 2020; Bagheri, et al., 2020). O sulforafano (SFN), um fitoquímico extraído da família de vegetais *Brassicaceae* é o principal componente destes vegetais, recebeu atenção considerável no

passado devido ao seu efeito preventivo em numerosas células cancerígenas (Chen, et al., 2013; Houghton, 2019).

O SFN, é um isotiocianato derivado de glucosinolatos abundante em vegetais crucíferos. O precursor do glucosinolato para o SFN, a glucorofanina é abundante em brócolis, couve-flor, couve e repolho com a maior concentração encontrada em brotos de brócolis e brócolis (Clarke, et al., 2008; Yagishita, et al., 2019; Hyun, 2020). Os glucosinolatos são compostos estáveis que precisam ser hidrolisados pela enzima mirosinase, que está presente em plantas e na flora microbiana do intestino, para torna-se bioativos. A mirosinase cliva o glucosinolato formando glicose, sulfato de hidrogênio e um tiocianato, nitrila ou um isotiocianato dependendo do glucosinolato inicial, pH da reação e disponibilidade de íons de metais de transição (Clarke, et al., 2011). Após a absorção, o SFN é metabolizado pela via do ácido mercaptúrico e excretado como um conjugado de N - acetilcisteína na urina (Sivapalan, et al., 2018).

Demonstrou-se que o SFN é um agente preventivo eficaz em modelos *in vitro* e *in vivo* para o câncer de mama, onde o vegetal é capaz de induzir seletivamente a apoptose e retardar o crescimento do tumor em células cancerígenas (Atwell, et al., 2015; Cheng, et al., 2019).

Além disso, o SFN está associado a muitos processos biológicos que podem prevenir ou tratar o câncer de mama, como ativação de enzimas de desintoxicação de fase II, supressão da progressão do ciclo celular, inibição da histona desacetilase para regular a expressão gênica, inibição da angiogênese e atividade anti-inflamatória e inibição de metástases (Zhou, et al., 2019; Houghton, 2019, Mandrich & Caputo, 2020; Bagheri, et al., 2020).

Uma das principais vantagens do SFN é sua maior biodisponibilidade, consequência de sua estrutura e lipofilicidade. Demonstrou-se que o SFN tem uma biodisponibilidade de cerca de 80% e pico na corrente sanguínea cerca de 1 hora após a ingestão (Houghton, 2019).

Com base no exposto, o presente estudo teve como objetivo analisar evidências na literatura em relação aos efeitos do sulforafano em células cancerígenas da mama.

2. Metodologia

Trata-se de uma revisão integrativa da literatura conduzida nas bases de dados Pubmed, Cochrane e Science Direct, entre os anos de 2019 a 2020, por duas revisoras, de forma independentes (LTMV e BJSAB), com base nos critérios de inclusão estabelecidos. As buscas realizadas pelas referidas autoras foram comparadas, para verificação da equivalência na busca e seleção dos artigos.

A estratégia PICO (*patient, intervention, comparison and outcomes*) foi utilizada para elaborar a pergunta norteadora dessa revisão “Qual a efetividade do potencial anticancerígeno do sulforafano em células cancerígenas da mama?”. Para a busca, foi utilizado os operadores booleanos AND e OR para busca cruzada dos termos.

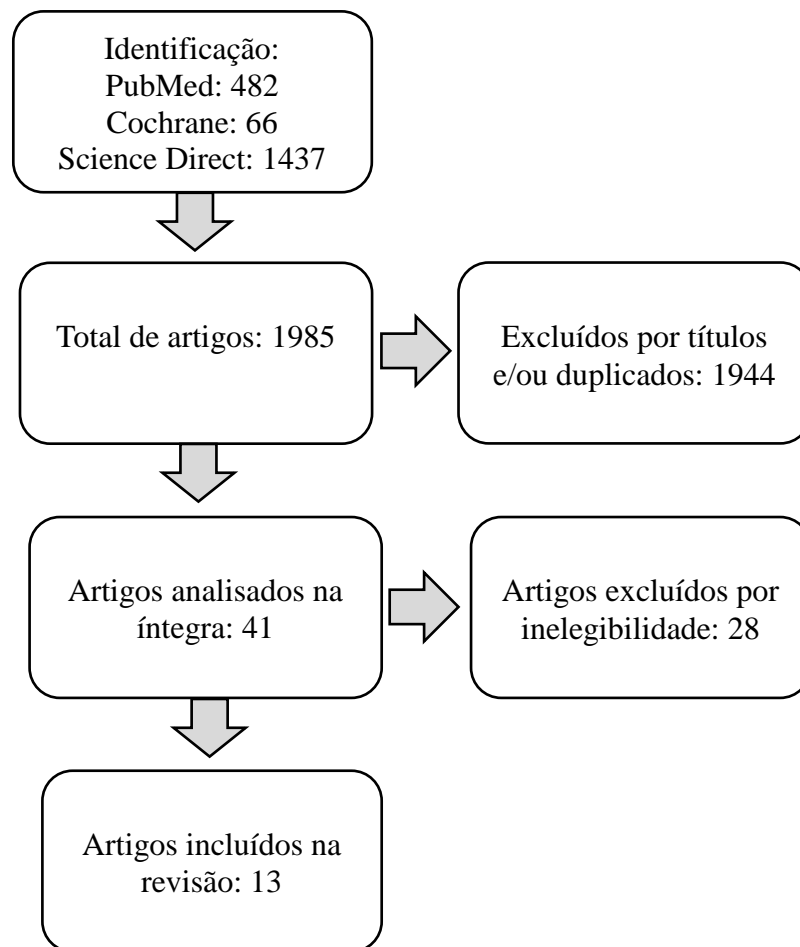
A pesquisa foi realizada com as seguintes combinações de descritores: “(sulforaphane OR methylsulfoxybutylisothiocyanate OR 1-isothiocyanato-4-methylsulphanylbutane) AND (breast cancer OR breast neoplasms OR breast tumors)”, “(broccoli OR brassica) AND breast cancer”, “(sulforaphane OR methylsulfoxybutylisothiocyanate OR 1-isothiocyanato-4-methylsulphanylbutane) AND breast cancer AND (cruciferous vegetables OR vegetables)”, “(sulforaphane OR methylsulfoxybutylisothiocyanate OR 1-isothiocyanato-4-methylsulphanylbutane) AND (broccoli OR brassica) AND (breast cancer OR breast neoplasms OR breast tumors) e “(sulforaphane OR methylsulfoxybutylisothiocyanate OR 1-isothiocyanato-4-methylsulphanylbutane) AND (broccoli OR brassica) AND (cruciferous vegetables OR vegetables)”.

Como critérios de elegibilidade, foram considerados estudos originais que avaliaram o efeito do SFN em células cancerígenas da mama nos idiomas português e inglês, no período de 2010 a 2020 disponíveis na íntegra sem distinção de sexo, raça ou etnia. Foram definidos como inelegíveis relatos de caso, artigos sem acesso a íntegra, de revisão, meta-análises, dissertações e teses, editoriais e experimentais em animais.

Informações relevantes foram coletadas dos artigos, incluindo autores, ano de publicação, local de realização da pesquisa, dose e duração da administração de SFN e principais resultados/conclusões. Para facilitar a análise, os dados foram organizados e estão disponíveis no Quadro 1.

A Figura 1 ilustra o número total de artigos obtidos nas respectivas bases de dados, a partir da combinação dos descritores definidos na pesquisa. Observou-se que ao final, foram incluídos 13 artigos que corresponderam aos critérios e a proposta de análise crítica do tema.

Figura 1. Diagrama das etapas de seleção dos artigos revisados.



Fonte: Autores.

3. Resultados e Discussão

Um total de 1985 artigos foram identificados por meio da pesquisa nas bases de dados PubMed (n=482), Science Direct (n=1437) e Cochrane (n=66). Após o processo de busca e análise dos artigos, considerando-se os critérios de elegibilidade e remoção de artigos duplicados, 13 artigos foram selecionados para compor esta revisão integrativa.

No Quadro 1 exposto abaixo, encontram-se os dados de caracterização dos estudos selecionados que compõem esta revisão.

Quadro 1. Principais características dos estudos incluídos. Teresina, 2020.

Autor/Ano	Local do estudo	Modelo celular	Dose/tempo de tratamento	Principais resultados/conclusões
Kanematsu, et al. (2010)	Japão	MCF-7 e MDA-MB-231	30 µM/L de SFN ou meio DMSO por 72 horas	↓ Viabilidade celular Parada do ciclo celular em G ₂ /M ↑ p21 e p27 e ↓ de ciclina A, B1 e CDC2 ↑ BAX e ↓ de BCL-2.
Meeran, et al. (2010)	USA	MCF-7, MDA-MB-231 e MCF10A	0,5,10,15 e 20 µM/L de SFN por 3, 6 e 9 dias	Inibição do crescimento e ↓ viabilidade celular Inibição da <i>hTERT</i> e indução de apoptose Inibição de HDAC ↓ DNMT1 e DNMT3a
Young-Rae, et al. (2013)	Coréia	MCF-7	1-5 µM/L de SFN por 24 horas	Sem alteração na viabilidade celular Inibição de NF-kB
Pawlik, et al. (2013)	Polônia	MCF-7, MDA-MB-231, SKBR-3 e MDA-MB-231	5,10, 20, 30 e 40 µM/L de SFN ou meio DMSO por 24 horas	↓ Viabilidade celular ↓ Fosforilação das cinases Akt e S6K1 Inibição da síntese de proteínas Indução da autofagia
Hussain, et al. (2013)	Emirados Árabes Unidos	MCF-7	0,01-75 µM/L de SFN isolado ou combinado com 0,1-100 nM de gemcitabina durante 24-48 horas	↓ Viabilidade e inibição do crescimento celular ↓ BCL-2 e COX-2 ↑ Eficiência da gemcitabina

Licznarska, et al. (2015)	Polônia	MCF-7, MDA-MB-231 e MCF10A	As células cancerígenas foram tratadas com 5, 10 ou 20 $\mu\text{mol} / \text{L}$ de SFN, enquanto as células MCF10A foram tratadas somente com DMSO por 72 horas	↓ Viabilidade celular Indução de apoptose
Lubecka-Pietruszewska, et al. (2015)	USA	MCF-7 e MDA-MB-231	10, 22 e 46 $\mu\text{M}/\text{L}$ de SFN isolado ou combinado com CIF (640 nM em MCF-7 e 50 nM em MDA-MB-231) durante 96 horas	↓ Viabilidade e ↓ crescimento celular Indução de apoptose ↑ p21 Não houve supressão de DNMT1
Royston, et al. (2017)	USA	MCF-7, MDA-MB-231 e MCF10A	5 $\mu\text{M}/\text{L}$ de SFN isolado ou combinado com 1 $\mu\text{M}/\text{L}$ de WA por 3 dias	↓ Viabilidade celular Indução de apoptose ↓ HDAC e DNMT Indução de BAX e inibição de BCL-2
Lewinska, et al. (2017)	Polônia	MCF-7, MDA-MB-231 e SKBR-3	5,10 e 20 $\mu\text{M}/\text{L}$ de SFN por 24 horas	Parada do ciclo celular em G ₂ /M nas células MCF-7 e MDA-MB-231 e nas células SKBR3 parada do ciclo celular em G ₀ /G ₁ ↑ p21 e p53 Indução de senescência celular e apoptose Alteração no perfil de microRNA
Kim, et al. (2017)	Coréia	MCF-7 e MDA-MB-231	1-20 $\mu\text{M}/\text{L}$ de SFN isolado ou combinado com 10 nM	↓ Viabilidade celular Indução de apoptose

			de paclitaxel durante 24 horas	Supressão da ativação de NF-kB ↓ BCL-2
Pawlik, et al. (2017)	Polônia	MDA-MB-231, SKBR3 e MCF10A	50 µM/L de SFN durante 24 horas	↓ Viabilidade celular Parada do ciclo celular em G ₂ /M Indução de apoptose ↑ BAX e ↓ de BCL-2
Royston, et al. (2018)	USA	MCF-7 e MDA-MB-231	5 µM/L de SFN isolado ou combinado com 1 µM/L de WA	↑ p21 Regulação negativa de HDAC1, HDAC2 e HDAC3
Cheng, et al. (2019)	Taiwan	ZR-75-1	0, 6,25, 12,5, ou 25 µM/L de SFN durante 1-3 dias	Parada do ciclo celular em G ₁ /S Sem indução de apoptose ↓ HDAC3

Legenda: SFN: sulforafano µM/L: micromolar por litro nM: nanômetro DMSO: meio dimetilsulfóxido ou sulfóxido de dimetilo p21/p27: genes supressores de tumor BAX: gene apoptótico BCL-2: gene anti-apoptótico hTERT: gene da transcriptase reversa da telomerase humana HDAC: histona desacetilase DNMT: DNA metiltransferases NF-kB: fator nuclear kappa B Akt: proteína quinase S6K1: proteína CIF: clofarabina WA: withaferin A.

Fonte: Autores.

Como exposto no quadro acima, a partir da avaliação dos 13 estudos incluídos nesta revisão, verificou-se que os estudos foram realizados em seis países diferentes, com diferentes doses de SFN em período variável de intervenção. Todos os estudos avaliaram crescimento e viabilidade celular, além de outras variáveis importantes como a atividade do supressor tumoral p21, indução de apoptose, atividade de HDAC e DNMT e níveis de BAX e BCL-2.

No estudo de Kanematsu, et al. (2010) notou-se que o tratamento com SFN reduziu a viabilidade celular nas linhagens celulares estudadas. A cerca da mesma temática, Meeran, et al., (2010) também constatou redução da viabilidade celular e da proliferação de células cancerígenas da mama, enquanto apresentou efeitos insignificantes sobre células não cancerígenas MCF10A. Em concordância, outros estudos, como de Pawlik, et al. (2013), Hussain, et al. (2013), Licznarska, et al. (2015), Lubecka-Pietruszewska, et al. (2015), Royston, et al. (2017), Kim, et al. (2017) e Pawlik, et al. (2017) também relataram que o tratamento com o SFN diminuiu a viabilidade celular. Diferindo dos estudos supracitados, Young-Rae, et al. (2013) constatou que o tratamento de células cancerígenas MCF-7 com SFN não resultou em nenhuma alteração significativa na viabilidade celular.

A cerca das células MCF10A, não foi afetada pelo efeito citotóxico do SFN, como evidenciada por Licznarska, et al. (2015). Em Pawlik, et al. (2017), as células MCF10A foram menos sensíveis ao tratamento com SFN com uma concentração de 5 $\mu\text{M/L}$. Em concentrações mais altas (10-50 $\mu\text{M/L}$) a viabilidade das células foi inibida em 20-30%, enquanto no caso das células cancerígenas a inibição atingiu 50-80%.

Como evidenciado na literatura, o SFN é um agente preventivo capaz de induzir a apoptose em células cancerígenas da mama. A esse respeito, 54% (n=7) dos estudos verificaram esse efeito. Kanematsu, et al. (2010) constataram que o tratamento de 72h com uma dose de 30 $\mu\text{M/L}$ de SFN nas células cancerígenas MDA-MB-231 induziu parada do ciclo celular em G₂/M associada ao aumento de supressor tumoral p21 e p27, que são moléculas reguladoras do ciclo celular, e níveis reduzidos de ciclina A, ciclina B1 e CDC2, que são importantes para a transição da fase S para G₂/M do ciclo celular. Como evidenciado no estudo de Meeran, et al. (2010), doses de SFN até 10 $\mu\text{M/L}$ apresentaram inibição do crescimento e proliferação nas células MCF-7 e MDA-MB-231, enquanto nas células MCF10A não apresentaram efeitos.

Quanto ao estudo de Hussain, et al. (2013), com a adição de um agente quimioterápico, gemcitabina, constatou uma inibição do crescimento celular em MCF-7. Um indicador característico de morte celular é o arredondamento de células, assim foi verificado

essa característica nessa linhagem em comparação com células não tratadas com SFN que mostraram morfologia adequada de células saudáveis.

Outro estudo abordando tratamento combinado foi o de Kim, et al. (2017), onde o tratamento combinado de SFN e um agente quimioterápico, paclitaxel, aumentou a apoptose via aumento da ativação da caspases 3, 8 e 9, sugerindo atividade quimiopreventiva em células da mama.

Semelhantemente, Licznarska, et al. (2015) também relataram indução de apoptose nas células MDA-MB-231 com uma dose de 5 e 20 $\mu\text{mol/L}$ de SFN, enquanto em MCF10A foi obtido mesmo efeito com 5 $\mu\text{mol/L}$ e já em MCF-7 dependente de estrogênio foi observado efeito anti-apoptótico na dose de 5 $\mu\text{mol/L}$ de SFN.

Considerando o estudo de Lubecka-Pietruszewska, et al. (2015), o aumento de apoptose não foi associado com ativação de caspase-3, mostrando uma falta de caspase-3 funcional nas células MCF-7. Sendo assim, pode-se perceber que a indução de apoptose independe da via da caspase nessa linha celular. Em células invasivas MDA-MB-231 que expressam caspase-3, o SFN em concentrações de 10 ou 46 $\mu\text{M/L}$, não aumentou a taxa de células apoptóticas ou atividade de caspase-3. Nas células MCF-7, o SFN aumentou os efeitos pró-apoptóticos da clofarabina (CIF), um análogo da 2'-desoxiadenosina, após 96 horas de tratamento. Nas células MDA-MB-231, 10 $\mu\text{M/L}$ de SFN em combinação com CIF não alterou significativamente os efeitos do CIF na morte celular.

De acordo com Lewinska, et al. (2017) o SFN promoveu parada do ciclo celular em G_2/M nas células MCF-7 e MDA-MB-231, já nas células cancerígenas SKBR3 foi observado parada do ciclo celular em G_0/G_1 . A paragem do ciclo celular em G_2/M foi também acompanhada por elevação nos níveis de p53 e p21 em células MCF-7. O tratamento elevou os níveis de p21 nas três linhagens celulares, concluindo que a p53 ativa não é necessária para ativação de p21 em células cancerígenas da mama.

Já no estudo de Pawlik, et al. (2017) o SFN induziu parada do ciclo celular em G_2/M em células SKBR-3 tratadas com 5 ou 10 $\mu\text{M/L}$, e células MDA-MB-231 expostas a 10 $\mu\text{M/L}$ do composto. Os resultados indicam que o SFN induziu a apoptose de uma maneira dependente da dose, quando tratados por 24 horas com 10 ou 20 $\mu\text{M/L}$. O estudo ainda propõe que a indução de apoptose está associada com disfunção mitocondrial. Adicionalmente, foi demonstrado que o nível do gene apoptótico (BAX) aumentou, enquanto o nível do gene anti-apoptótico (BCL-2) diminuiu.

Com relação a atividade de BAX e BCL-2, Hussain, et al. (2013) verificaram alta expressão em células MCF-7 antes do tratamento com SFN. Semelhantemente, Kim, et al.,

(2017) demonstraram que os níveis de expressão de BCL-2 diminuíram após o tratamento devido à inativação da sinalização de NF-κB, o fator de transcrição que regula a expressão de vários genes associados à proliferação celular, metástase, progressão do ciclo celular, angiogênese e apoptose. Contrariando os achados, Pawlik, et al. (2017) constataram que o nível de BAX aumentou, enquanto o nível da proteína BCL-2 diminuiu após o tratamento com SFN.

A literatura científica tem demonstrado que os mecanismos envolvidos nos efeitos preventivos induzidos pelo SFN, incluem supressão de enzimas de fase 1, por meio de interações diretas com as enzimas do citocromo P450, induzindo vias apoptóticas, suprimindo a progressão do ciclo celular, inibindo a angiogênese e a resposta inflamatória (Chen, et al., 2013). Já foi demonstrado que o SFN inibe a atividade da histona desacetilase (HDAC), que leva um aumento na acetilação de histonas contribuindo para a reativação de genes supressores de tumor silenciados, como o p21, reativando o supressor tumoral e finalmente induzindo a parada do ciclo celular e apoptose (Clarke, et al., 2011; Chen, et al., 2013; Royston & Tollefsbol, 2015; Zhou, et al., 2019).

O supressor tumoral e regulador do ciclo celular p21 tem sido associado com impedimento do ciclo em células cancerígenas (Clarke, et al., 2011; Chen, et al., 2013). Como visto nos estudos de Lubecka-Pietruszewska, et al. (2015), Lewinska, et al. (2017) e Royston, et al. (2018), ficou evidenciado que o tratamento com SFN resultou na indução de p21, levando a conclusão de que essa ativação é independente da expressão do gene supressor de tumor p53. Além disso, no estudo de Royston, et al. (2018) a regulação negativa de HDAC1, HDAC2 e HDAC3 foi responsável pelas mudanças observadas na expressão do p53 e p21, sugerindo que a regulação da expressão de p21 tem mostrado envolver HDAC.

Royston, et al. (2018) foi o primeiro estudo a mostrar que a combinação do SFN e withaferin A (WA), isolada de uma cereja de inverno prevalente na Índia, pode ser capaz de reativar epigeneticamente o supressor p21 e esse achado serve como uma explicação para a morte de células cancerígenas relatada por Royston, et al. (2017).

O interesse pelo SFN tem crescido devido a sua potência para influenciar processos epigenéticos através da segmentação de moduladores epigenéticos como HDAC e DNA metiltransferases (DNMT) que podem levar a alterações de marcas epigenéticas resultando na transcrição gênica e alterações na sua expressão (Li, et al., 2018). Talvez, uma explicação para a diminuição da viabilidade celular induzida pelos compostos no estudo conduzido por Royston, et al. (2017) poderia estar associada as mudanças observadas na expressão de DNMT e HDAC.

A presente revisão é consistente com o estudo de Paul, et al. (2018) que também identificaram uma ação preventiva com a combinação de genisteína e SFN em células cancerígenas da mama. O SFN demonstrou ter propriedades inibidoras de HDAC e DNMT. Além disso, o tratamento combinado mostrou um efeito preventivo na formação de tumores mamários em modelos de camundongos transgênicos. A genisteína pode estar associado a regulação de diferentes genes epigeneticamente suprimidos via desmetilação do promotor e provoca alteração da modificação da cromatina de diferentes promotores de genes.

No câncer de mama, as alterações nos níveis de expressão de oncogenes e genes supressores de tumores são amplamente controladas por alterações epigenéticas, particularmente a metilação do DNA e modificações de histonas (Selvakumar, et al., 2020). Os moduladores epigenéticos DNMT são proeminentes na maioria dos cânceres e são responsáveis pela metilação do DNA.

Evidências apontam que o SFN como um regulador de DNMT está envolvido na desmetilação do gene da transcriptase reversa da telomerase humana (*hTERT*) (Royston & Tollefsbol, 2015). Estudo aponta que o SFN pode induzir a repressão da *hTERT* e reativar o receptor de estrogênio (RE) em células de câncer de mama com RE negativo, através de mecanismos epigenéticos (Li, et al., 2018). Considerando o exposto, o estudo de Meeran, et al. (2010) verificou que o tratamento inibiu o *hTERT* em ambas as linhagens celulares levando a sua regulação negativa e induzindo a apoptose celular.

O SFN é considerado o mais potente dos compostos indutoras da fase 2, assim como a inibição de enzimas envolvidas na ativação de carcinógenos, mas estudos recentes identificaram outras atividades do SFN, incluindo proteção e anti-inflamação (Young-Rae, et al., 2013; Houghton, 2019; Mandrich & Caputo, 2020).

As proteínas na família BCL-2 desempenham um papel central na regulação de apoptose. Segundo Kanematsu, et al. (2010), a relação BAX/BCL-2 pode ser mais importante do que somente alterações nos níveis de BAX, sugerindo a importância da relação. Kim, et al. (2017) verificaram que a inibição da viabilidade celular após o tratamento pode ser mediada pela inibição da BCL-2. Considerando que o aumento da expressão de BCL-2 pode estar relacionado à quimiorresistência, a redução do nível de BCL-2 por drogas preventivas, como o SFN, pode aumentar a sensibilidade a drogas anticâncer como relatado no estudo de Hussain, et al. (2013).

Como agente preventivo, o SFN possui vantagens, como alta biodisponibilidade e baixa toxicidade (Li, et al., 2010). Com poucos ou insignificantes efeitos adversos, os

compostos bioativos da dieta mostram efeitos preventivos, especialmente em doses baixas e em concentrações fisiológicas (Atwell, et al., 2015; Gianfredi, et al., 2017).

A eficácia anticancerígena do SFN, avaliada nos estudos que compõem essa revisão, indicam que o SFN pode ser absorvido, atingir concentrações de $\mu\text{mol/L}$ no sangue, se acumular nos tecidos e ser mantido para alcançar os efeitos anticancerígenos no organismo (Clarke, et al., 2008). No estudo de Cheng, et al. (2019), os metabólitos do SFN foram imediatamente percebidos no tecido mamário humano após a administração oral do composto.

4. Considerações Finais

Os resultados dos estudos sugerem evidências dos benefícios do SFN como um composto com efeitos preventivos no tratamento de pacientes oncológicos, tendo forte associação entre o tratamento e retardo no crescimento de tumores em células da mama. Essa constatação é possivelmente explicada pelo envolvimento do composto com a supressão de enzimas de fase 1 e indução de enzimas de fase 2, favorecendo a apoptose e supressão do ciclo celular. No entanto, novas investigações são necessárias para investigar os mecanismos moleculares subjacentes aos efeitos do SFN para fornecer uma base racional para sua aplicação clínica no futuro, além de aspectos relacionados a dose e tempo de suplementação ideais.

Referências

Atwell, L.L., Zhang, Z., Mori, M., Farris, P., Vetto, J.T., Naik, A.M., Oh, K.Y., Thuillier, P., Ho, E., & Shannon, J. (2015). Sulforaphane bioavailability and chemopreventive activity in women scheduled for breast biopsy. *Cancer Prev Res (Phila)*, 8(12), 1184-1191.

Bagheri, M., Fazli, M., Saeednia, S., Kharanagh, M.G., & Ahmadiankia, N. (2020). Sulforaphane modulates cell migration and β -catenin expression and epithelial markers of mesenchymal transition in cancer cells breast. *Iran J Public Health*, 49(1), 77-85.

Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer - INCA. (2020). Câncer de Mama. Acesso em 13 de maio, em <http://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-mama>

Cheng, A-C., Shen, C-J., Hung, C-M., & Hsu, H-C. (2019). Sulforaphane decrease in the expression SERTAD1 triggers the G1 / S arrest in breast cancer cells. *J Med Food*, 22(5), 444-450.

Chen, H., Landen, C. N., Alvarez, R. D., & TollefsboL, T. O. (2013). Epigallocatechin gallate and sulforaphane combination treatment induce apoptosis in paclitaxel-resistant ovarian cancer cells through hTERT and Bcl-2 down-regulation. *Exp Cell Res*, 319(5), 697-706.

Clarke, J. D., Dashwood, R. H., & Ho, E. (2008). Multi-targeted prevention of cancer by sulforaphane. *Cancer Lett*, 269(2), 291-304.

Clarke, J. D., Riedi, K., Bella, D., Schwartz, S. J., Stevens, J. F., & Ho, E. (2011). Comparison of isothiocyanate metabolite levels and histone deacetylase activity in human subjects consuming broccoli sprouts or broccoli supplement. *J Agric Food Chem*, 59(20), 10955-10963.

Cozzolino, S. M. F. & Cominetti, C. (2013). *Bases Bioquímicas e Fisiológicas da Nutrição: nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença*. Barueri: Manole.

Gianfredi, V., Vannini, S., Moretti, M., Villarini, M., Bragazzi, N. L., Izzotti, A., & Nucci, D. (2017). Sulforaphane and Epigallocatechin Gallate Restore Estrogen Receptor Expression by Modulating Epigenetic Events in the Breast Cancer Cell Line MDA-MB-231: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Nutrigenet Nutrigenomics*, 10, 3-4, 126-135.

Gomes, A. L. M., Magalhães, J. A., Neves, J. P., Silva, L. R. L., Gomes, R. V. S., França, R. G. O., & Nogueira, T. R. (2020). Efeitos da suplementação de arginina, glutamina e ômega-3 sobre a resposta inflamatória e estado nutricional de pacientes oncológicos. *Research, Society and Development*, 9(5).

Houghton, C. A. (2019). Sulforaphane: its “adulthood” as clinically relevant nutraceutical in the prevention and treatment of chronic diseases. *Oxid Med Cell Longev*.

Hussain, A., Mohsin, J., Prabhu, S. A., Begum, S., Nusri, Q. A., Harish, G., Javed, E., Khan, M. A., & Sharma, C. (2013). Sulforaphane Inhibits Growth of Human Breast Cancer Cells and increases the therapeutic index of the chemotherapeutic Drug, Gemcitabine. *Asian Pac J Cancer Prev*, 14(10), 5855-60.

Hyun, T. K. (2020). A recent overview of sulforaphane as an epigenetic modulator of diet. *EXCLI J*, 19, 31–134.

Jiang, X., Liu, Y., Ma, L., Ji, R., Qu, Y., Xin, Y., & Lv, G. (2018). Chemopreventive activity of sulforaphane. *Drug Des Devel Ther*, 12, 2905-2913.

Kanematsu, S., Uehara, N., Miki, H., Yoshizawa, K., Kawanaka, A., Yuri, T., & Tsubura, A. (2010). Inhibition of autophagy increases apoptosis induced by sulforaphane in cancer cells human. *Anticancer Res*, 30(9), 3381-90.

Kim, S. H., Park, H. J., & Oh, L. D. (2017). Sulforaphane sensitizes the cancer cells in the human breast cancer to apoptosis induced by paclitaxel, negatively regulating the signaling pathway of NF-Kb. *Oncol Lett*, 13(6), 4427-4432.

Lewinska, A., Adamczyk-Grochala, J., Deregowska, A., & Wnuk, M. (2017). Cellular arrest induced by sulforaphane and senescence are accompanied by hypomethylation of DNA and changes in the microRNA in breast cancer cells. *Theranostics*, 7(14), 3461-3477.

Li, Y., Buckhaults, P., Li, S., & Tollefsbol, T. O. (2018). Temporal Efficacy of a Sulforaphane-Based Broccoli Sprout Diet in Prevention of Breast Cancer through Modulation of Epigenetic Mechanisms. *Cancer Prev Res (Phila)*, 11(8), 451-464.

Licznarska, B., Szaefer, H., Matuszak, I., Murias, M., & Dubowska, W. B. L. (2015). Sulforaphane Modulation Potential in Cytochrome P450 Expression to Identify Potential Targets for Chemoprevention and Breast Cancer Using Breast Cell Lines. *Phytother Res*, 29(1), 93-99.

Lubecka-Pietruszewska, K., Kaufman-Szymczyk, A., Stefanska, B., Cebula-Obrzut, B., & Smolewski, P. (2015). Sulforaphane alone and in combination with clofarabine epigenetically

regulates the methylation expression of DNA-silenced Tumor suppressor genes in human breast Cancer cells. *J Nutrigenet Nutrigenomics*, 8(2), 91-101.

Mandrich, L. & Caputo, E. (2020). Brassicaceae - derived anticancer agents: towards a green approach to fight câncer. *Nutrients*, 12(3), 868.

Meeran, S. M., Patel, S. N., & Tollefsbol, T. O. (2010). Sulforaphane causes epigenetic repression of hTERT expression in human breast cancer cell lines. *Plos One*, 5(7).

Nogueira, T. R., Araújo, C. G. B., Caldas, D. R. C., Maciel, E. M., Silva, M. C. M. & Rodrigues, G. P. (2020). Obesidade e Câncer de mama: Algumas evidências científicas e vias de interação. *Research, Society and Development*, 9(4).

Paul, B., Li, Y., & Tollefsbol, T. O. (2018). The Effects of Combinatorial Genistein and Sulforaphane in Breast Tumor Inhibition: Role in Epigenetic Regulation. *Int J Mol Sci*, 19(6), 1754.

Pawlik, A., Wiczak, A., Kacznska, A., Antosiewicz, J., & Herman-Antosiewicz, A. (2013). Sulforaphane inhibits the growth of breast cancer cells phenotypically different. *Eur J Nutr*, 52(8), 1949-1958.

Pawlik, A., Wala, M., Hac, A., Felczykowska, A., & Antosiewicz, A. H. (2017). Sulforaphane, an isothiocyanate present in radish plants, inhibits proliferation of human breast cancer cells. *Phytomedicine*, 15(29), 1-10.

Royston, K. J. & Tollefsbol, T. O. (2015). The Epigenetic Impact of Cruciferous Vegetables on Cancer Prevention. *Curr Pharmacol Rep*, 1(1), 46-51.

Royston, K. J., Udayakumar, N., Lewis, K. & Tollefsbol, T. O. (2017). A new combination of Withaferin A and Sulforaphane inhibits epigenetic machinery, cell viability and induces apoptosis of breast cancer cells. *Int J Mol Sci*, 18(5), 1092.

Royston, K. J., Paul, B., Nozell, S., Raibhandari, R., & Tollefsbol, T. O. (2018). Withaferin A and sulforaphane regulate breast cancer cell cycle progression through epigenetic mechanisms. *Exp Cell Res*, 368(1), 67-74.

Selvakumar, P., Badgeley, A., Murphy, P., Anwar, H., Sharma, U., Lawrence, K., & Lakshmikuttyamma, A. (2020). Flavonoids and other polyphenols act as epigenetic modifiers in breast cancer. *Nutrients*, 12(3), 761.

Sivapalan, T., Melchini, A., Saha, S., Needs, P. W., Traka, M. H., Tapp, H., Dainty, J. R., & Mithen, R. F. (2018). Glucorafanin and broccoli sulforaphane bioavailability with high glucorafanin level. *Mol Nutr Food Res*, 62(18).

Yagishita, Y., Fahey J. W., Dinkiva-Kostova, A. T., & Kensler, T. W. (2019). Broccoli or sulforaphane: is it the source or the dose that matters? *Molecules*, 24(19), 3593.

Young-Rae, L., Noh, E. M., Ji-Hey, H., Kim, J. M., Hwang, B. M., Soeong-Soo, K., Sung-Ho, L., Jung, S. H., Jo, Y. H., Chung, E. Y., & Kim, J. S. (2013). Sulforaphane controls TPA-induced MMP-9 expression through of the NF- κ B signaling pathway, but not AP-1, in cancer cells of breast MCF-7. *BMB Rep*, 46(4), 201-206.

Zhou, J-W., Wang, M., Sun, N-X., Qing, Y., Yin, T-F., Li, C., & Wu, D. (2019). Sulforaphane-induced epigenetic regulation of Nrf2 expression by DNA methyltransferase in human Caco-2 cells. *Oncol Lett*, 18(3), 2639-2647.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Letícia Thaís Mendes Viana – 70%

Betânia de Jesus e Silva de Almendra Freitas – 30%