

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
UNIDADE ACADÊMICA DE ENFERMAGEM
CURSO DE BACHARELADO EM ENFERMAGEM**

JÉSSYKA SAMARA DE OLIVEIRA MACEDO

**UM ESTUDO TRANSCENDENTE SOBRE O CÂNCER DE MAMA:
Mortalidade e tratamento**

CUITÉ – PB

2019

JÉSSYKA SAMARA DE OLIVEIRA MACEDO

UM ESTUDO TRANSCENDENTE SOBRE O CÂNCER DE MAMA

Mortalidade e tratamento

Trabalho de conclusão de curso entregue à coordenação do Curso de Bacharelado em Enfermagem do Centro de Educação e Saúde, da Universidade Federal de Campina Grande como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Enfermagem

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Bruna Braga Dantas

CUITÉ – PB

2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Rosana Amâncio Pereira – CRB 15 – 791

M141e Macedo, Jéssyka Samara de Oliveira.

Um estudo transcendente sobre o câncer de mama: mortalidade e tratamento. / Jéssyka Samara de Oliveira Macedo: CES, 2019.

36 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Enfermagem) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2019.

Orientação: Dra. Bruna Braga Dantas

1. Neoplasias da mama. 2. Mortalidade. 3. Citotoxicidade. I. Título.

Biblioteca do CES – UFCG

CDU 618.19-006

JÉSSYKA SAMARA DE OLIVEIRA MACEDO

UM ESTUDO TRANSCENDENTE SOBRE O CÂNCER DE MAMA

Mortalidade e tratamento

Trabalho de conclusão de curso entregue à coordenação do Curso de Bacharelado em Enfermagem do Centro de Educação e Saúde, da Universidade Federal de Campina Grande como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Enfermagem.

Aprovado em ____/____/____ pela seguinte banca examinadora:

Profa. Dra. Bruna Braga Dantas
Orientadora – UFCG

Profa. Dra. Glenda Agra
Membro titular – UFCG

Profa. Dra. Mariana Albernaz Pinheiro de Carvalho
Membro titular – UFCG

CUITÉ – PB

2019

*A Deus, o soberano, com todo o meu amor,
dedico.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu Pai do Céu, cujas mãos poderosas firmaram os alicerces desta terra e, mesmo assim, se fizeram afáveis ao meu coração quando este esmoreceu; à Voz a qual se submete todo ser vivente e que entoou doces palavras de encorajamento e conforto aos meus ouvidos, quando o desânimo esbravejou. Que meus caminhos sejam teus para todo o sempre.

Aos meus pais, Valéria e José, pelas incontáveis vezes que tiveram de sonhar mais baixo para que eu pudesse voar alto. Aos meus irmãos, Camila, Priscilla e Vinnicius, por ressignificarem a palavra “refúgio”; vocês o foram para mim. À Isabella, um raio de Sol quente e iluminado, pela alegria do seu sorriso. Ao meu cunhado Claudécí, por seus ensinamentos práticos de persistência e sensatez. Ao meu cunhado Mariz, por me ofertar a hospitalidade do seu lar. Às minhas tias Diana, Neide e Rosa, que me acolheram e tornaram possível a realização das atividades extramuros da universidade.

Às minhas companheiras de moradia, Elen e Yorrane, por todo apoio e pela oportunidade de vislumbrar as muitas vertentes da coletividade. À Ana Maria, Elinalda, Girlene, Jacilene, Rafaela e Mônica pela cumplicidade e amizade; vocês me deram o que de mais precioso pode-se adquirir na jornada fora de casa, a capacidade de cultivar o amor e afeição pelo outro.

Aos meus colegas de curso, em especial, às minhas irmãs de coração, Bruna, Carla, Giovanna, Heloyse, Larissa, Renata e Thalita por tornarem a jornada acadêmica um fardo suportável. A convivência com vocês agregou-me saberes de valor inestimável no processo de formação de um ser humano melhor.

Aos membros atuais e passados da mocidade da igreja Assembleia de Deus Ministério de Madureira, pela comunhão e pelas muitas interseções em meu favor, em especial a Adriano, Amanda, Isac, Juberlei (a quem eu tenho o orgulho de chamar de líder), Lucas, Kelly, Miriã e Sthefany; a sensibilidade de vocês em compreender minhas ausências foi fundamental para o término dessa etapa da minha jornada acadêmica.

À minha orientadora, Bruna, por abraçar os meus sonhos como seus e por compartilhar sua essência comigo. Sua trajetória tem me inspirado ricamente no âmbito científico e, sobretudo, no pessoal. À Glenda e à Mariana por abrilhantarem

minha pesquisa ao compor a minha banca examinadora; a seu modo, cada uma deixou uma marca na minha vida acadêmica.

Ao professor Demetrius e a todos que fazem o Laboratório de Biologia Celular e Molecular do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal de Campina Grande pela oportunidade de ampliar meus horizontes no âmbito da pesquisa científica e ao CNPQ pelo financiamento.

À cidade de Cuité, por acolher a mim e tantos outros estudantes como filhos e por constituir um ambiente favorável à produção do conhecimento, humanidade e resistência. Aos mestres e servidores do Centro de Educação em Saúde da Universidade Federal de Campina Grande por tornarem o aprendizado possível e deleitoso.

À Miriela, pela gentileza e bondade do seu gesto, que permitiu-me provar, uma segunda vez, da sua solicitude e atenção. Aos anjos Alba e Rafael, seu adorável filho, pelo socorro no dia da aflição que me fez ingressar na Universidade Federal de Campina Grande; vocês compõem o que, para mim, é o exemplo fiel do altruísmo e amabilidade humana.

RESUMO

Introdução: O Câncer de Mama (CM) posiciona-se atualmente como o câncer mais comumente diagnosticado e a principal causa de mortalidade por câncer em mulheres. Acredita-se que o impacto da mortalidade por essa causa seja ainda mais intenso em países em desenvolvimento, como o Brasil, onde os recursos destinados à assistência a saúde são limitados e, conseqüentemente, deficientes no que se refere às medidas de prevenção e tratamento da doença. Sabendo que a mortalidade representa um importante indicador social e de saúde, o presente estudo propõe-se a traçar o perfil da mortalidade por CM no Brasil e, considerando a prevenção e o tratamento do CM como abordagens imprescindíveis a redução da mortalidade, a buscar compostos sintéticos e naturais que possam ser utilizados nessas modalidades. **Metodologia:** Para tanto foi realizado um estudo exploratório de série temporal no Atlas de Mortalidade *Online* do INCA, considerando a distribuição da Taxa de Mortalidade (TM) por CM de acordo com o sexo e com a faixa etária durante os períodos de 1987-1996, 1997-2006 e 2007-2016 no Brasil. Consoante ao estudo exploratório, realizou-se, uma pesquisa experimental, em que analisou-se a citotoxicidade de 20 compostos sintéticos, os tiazóis, e um natural, a carvona em linhagens cancerígenas de CM, MDA-MB-231 e MCF-7. Utilizou-se, para esse fim, a técnica de redução do MTT e a marcação com Iodeto de Propídeo (IP) e Hoechst (IP). **Resultados e discussão:** O CM no Brasil demonstrou uma TM elevada, em comparação com a de outros países do mundo. Por razões hormonais, o índice foi maior em mulheres em idade reprodutiva, no entanto, o CM masculino demonstrou um crescimento da mortalidade maior que o feminino. Estes resultados revelam a inabilidade da política de saúde brasileira em lidar com o aumento da incidência do CM. Quanto à análise experimental, verificou-se que os compostos sintéticos não apresentaram efeito citotóxico às linhagens carcinogênicas. Apesar disso, existe uma gama de atividades biológicas a serem investigadas em estudos futuros. Com relação à carvona, verificou-se que esta revelou-se citotóxica, em suas duas formas, às linhagens celulares de CM, apresentando potencial para desenvolvimento de um novo quimioterápico. Ademais, em virtude da sua disponibilidade em compostos naturais utilizados na culinária nacional, a substância apresenta ainda potencial de atuação na prevenção primária da doença. **Conclusões:** A TM por CM no Brasil é caracterizada por apresentar índices elevados, sobretudo em mulheres a partir dos 40 anos. O índice apresenta, ainda, uma tendência progressiva para os próximos anos. Essa situação corrobora a necessidade de melhorias no que se refere ao manejo assistencial da doença, sobretudo no tratamento e na prevenção. Nesse sentido, um dos compostos analisados nesse estudo, a carvona, apresentou-se como uma alternativa para ambas as modalidades.

Palavras-chave: Neoplasias da mama. Mortalidade. Citotoxicidade.

ABSTRACT

Introduction: Breast cancer (BC) currently stands as the most commonly diagnosed cancer and the leading cause of cancer mortality in women. It is believed that the impact of mortality from this cause is even more intense in developing countries, such as Brazil, where resources for health care are limited and, consequently, deficient in prevention and treatment measures. Knowing that mortality represents an important social and health indicator, the present study proposes to outline the mortality profile by BC in Brazil and, considering the prevention and treatment of BC as essential approaches to reduce mortality, to seek compounds synthetic and natural materials that can be used in such modalities. **Methods:** An exploratory time series study was carried out in the INCA Online Mortality Atlas, considering the distribution of mortality by BC according to sex and age group during the periods 1987-1996, 1997-2006 and 2007-2016 in Brazil. Based on the exploratory study, an experimental study was carried out in which the cytotoxicity of 20 synthetic compounds, thiazois, and a natural, carvone in breast cancer cell lines, MDA-MB-231 and MCF- 7. To this end, the MTT reduction technique and the labeling with Propidium Iodide (PI) and Hoechst (HO) were used. **Results and discussion:** CM in Brazil showed a high MT compared to other countries in the world. For hormonal reasons, the rate was higher in women of reproductive age, however, the male CM showed a higher mortality growth than the female. These results reveal the inability of the Brazilian health policy to deal with the increased incidence of CM. As for the experimental analysis, it was verified that the synthetic compounds did not present a cytotoxic effect to the carcinogenic strains. Despite this, there is a range of biological activities to be investigated in future studies. With regard to carvone, it was found that it was cytotoxic, in its two forms, to BC cell lines, presenting potential for the development of a new chemotherapeutic. In addition, due to its availability in natural compounds used in national cuisine, the substance still has potential for action in the primary prevention of the disease. **Conclusions:** MT by BC in Brazil is characterized by high indexes, especially in women from 40 years of age. The index also shows a progressive trend for the coming years. This situation corroborates the need for improvements in the management of the disease, especially in the treatment and prevention. In this sense, one of the compounds analyzed in this study, carvone, was presented as an alternative for both modalities.

Keywords: Breast neoplasms. Mortality. Cytotoxicity.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Reagentes e soluções utilizados para execução dos protocolos experimentais da pesquisa.....17
- Tabela 2** - Equipamentos utilizados para execução dos protocolos experimentais da pesquisa.....18
- Tabela 3** - $CI_{50} \pm$ Erro Padrão da Média (EPM) das linhagens celulares MDA-MB-231 e MCF-7 após 72 horas de tratamento com os 20 compostos derivados do núcleo tiazol e com a (+) carvona e (-) carvona.....24

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - TM por CM no Brasil por 100.000 homens ou mulheres, em faixas etárias distintas, entre 1987 e 2016.....18
- Figura 2** - Distribuição da TM por CM no Brasil, segundo o sexo por 100.000 homens ou mulheres, em faixas etárias distintas, ao longo dos períodos de 1987 a 1996, 1997 a 2006 e 2007 a 2016.....20
- Figura 3** - Progressão da TM por CM no Brasil, segundo o sexo por 100.000 homens ou mulheres, em faixas etárias distintas, considerando os próximos 100 anos.....21
- Figura 4** - Distribuição da TM por CM no Brasil segundo a faixa etária no sexo feminino (A) e no sexo masculino (B) ao longo dos períodos de 1987 a 1996, 1997 a 2006 e 2007 a 2016.....22
- Figura 5** - Avaliação do efeito citotóxico da (+) carvona em MDA-MB-231 (A) e MCF-7 (B) e da (-) carvona em MDA-MB-231 (C) e MCF-7 (D), durante o período de 72 horas através do ensaio de redução do MTT.....25
- Figura 6** - Resultados da marcação com *Hoechst* e IP em células MDA-MB-231 não tratadas (CTL) e após 24 horas de tratamento com (+) carvona ((+) C), (-) carvona ((-) C) e Doxorubicina (DOXO).....27
- Figura 7** - Resultados da marcação com *Hoechst* e IP em células MDA-MB-231 não tratadas (CTL) e após 24 horas de tratamento com (+) carvona ((+) C), (-) carvona ((-) C) e Doxorubicina (DOXO).....28

LISTA DE SIGLAS

(-) C – (-) Carvona

(+) C – (+) Carvona

BCRJ – Banco de Células do Rio de Janeiro

CM – Câncer de Mama

CTL – Controle

DMEM – Dulbecco's Modified Eagle Medium

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

DOXO – Doxorrubicina

EPM – Erro Padrão da Média

HO – Hoechst

INCA – Instituto Nacional de Câncer

IP – Iodeto de Propídio

MTT – 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium)

PBS – Phosphate Buffered saline

RPMI – Roswell Park Memorial Intitute Medium

SBF – Soro Bovino Fetal

SDS – Dodecil Sulfato de Sódio

TM – Taxa de Mortalidade

TRH – Terapia de Reposição Hormonal

UE – União Europeia

UFCG – Universidade Federal de Campina Grande

UFPB – Universidade Federal da Paraíba

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 MÉTODO.....	15
2.1 PERFIL DA MORTALIDADE POR CÂNCER DE MAMA NO BRASIL	15
2.2 ANÁLISE DO EFEITO ANTICÂNCER DOS TIAZÓIS E DA CARVONA.....	16
2.2.1 Ensaio colorimétrico de redução do MTT	18
2.2.2 Ensaio de marcação com Iodeto de Propídeo e <i>Hoechst</i>	19
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
3.1 MORTALIDADE POR CM NO BRASIL.....	21
3.1.1 Mortalidade por câncer de mama independente do sexo e da faixa etária. Brasil, 1987 a 2016	21
3.1.2 Mortalidade por câncer de mama segundo o sexo e independente da faixa etária. Brasil, 1987 a 1996, 1997 a 2006 e 2007 a 2016.....	22
3.1.3 Progressão da mortalidade por câncer de mama segundo o sexo e por período selecionado. Brasil, 2017 a 2107	23
3.1.4 Mortalidade por câncer de mama segundo a faixa etária e o sexo. Brasil, 1987 a 1996, 1997 a 2006 e 2007 a 2016.....	24
3.2 ANÁLISE DO EFEITO ANTICÂNCER DOS TIAZÓIS E DA CARVONA.....	25
3.2.1 Avaliação da viabilidade celular	25
3.2.2 Avaliação de características de morte celular	28
4 CONCLUSÕES	32
REFERÊNCIAS.....	33

1 INTRODUÇÃO

O câncer posiciona-se atualmente como uma das principais causas de mortalidade da atualidade, afetando populações de todas as regiões e países (STEWART; WILD, 2014). No Brasil, estima-se que mais de 200 mil mortes por essa causa tenham ocorrido em 2015, um valor que corresponde a aproximadamente 20% dos óbitos totais para esse mesmo ano, qualificando-o como um dos países com a maior mortalidade por câncer do mundo (INCA, 2018).

Nesse sentido, o Câncer de Mama (CM) representa o câncer mais comumente diagnosticado em mulheres e a principal causa de mortalidade por câncer em mulheres na maior parte do mundo (STEWART; WILD, 2014). No Brasil, entre 2014 e 2017 mais de 135 mil mortes foram registradas em decorrência do CM, o que representa 15% de todas as mortes por câncer ocorridas nesse período (FIGUEIREDO et al., 2017).

O aumento da mortalidade por CM não tem sido um fenômeno exclusivo do Brasil, mas pertinente a boa parte dos países do mundo. No entanto, há uma dualidade existente entre países desenvolvidos e aqueles considerados subdesenvolvidos ou em desenvolvimento que necessita ser enfatizada; enquanto a mortalidade por CM apresenta índices decrescentes ao longo dos anos nos países europeus e norte-americanos, os países latino-americanos e africanos demonstram o crescimento exacerbado dessas taxas, dispendo uma tendência progressiva ao longo dos anos (CARIOLI et al., 2017).

Esse cenário decorre da implementação de melhorias em estratégias de prevenção secundária – que inclui a oferta de métodos de diagnóstico – e tratamento do CM que têm ocorrido nos países desenvolvidos em consonância com o aumento da incidência da doença, mas que não podem ser observados nos países em desenvolvimento e subdesenvolvidos (TORRE et al., 2015).

Desse modo, pode-se inferir que a Taxa de Mortalidade (TM) representa um importante indicador da qualidade da assistência, necessitando da realização de levantamentos frequentes, possibilitando a caracterização do comportamento desse índice ao longo dos anos e, conseqüentemente, apontando as lacunas e direcionado as melhorias no tocante à atenção à pessoa com CM (LI; WANG, 2015).

Ademais, considerando o a elevação da incidência do CM e a necessidade de atender as especificidades da população afetada, a relevância da existência de

múltiplas formas de tratamento do CM para a redução desse índice torna-se explícita, sobretudo em países em desenvolvimento, como o Brasil, onde o investimento nessa área é ainda mais requerido (ROCHA-BRISCHILIARI et al., 2017).

Nesse sentido, estudos foram realizados com substâncias sintéticas e naturais, os tiazóis¹ e a carvona², respectivamente, caracterizando suas propriedades anticancerígenas (JAIN et al., 2018; PATEL; THAKKAR, 2014). Importa ressaltar que muitos tiazóis ainda apresentam seu potencial anticâncer desconhecido, assim como a carvona, que possui essa atividade reconhecida apenas com o isômero (S)-(+), o que revela a necessidade de realização de novas pesquisas que busquem analisar a atividade dessas substâncias ainda não triadas.

Considerando essas informações, o presente estudo se propõe a realizar 2 grandes objetivos, sendo o primeiro analisar o perfil da mortalidade por CM no Brasil entre 1987 e 2016 e o segundo, avaliar a atividade de compostos sintéticos, os tiazóis, e naturais, a carvona, no tratamento do CM.

¹ Compostos heterocíclicos caracterizados pela variedade estrutural e por apresentarem uma gama de atividades biológicas, tais como, anticâncer, antibacteriana, antiparasitária, antirretroviral, antidepressiva e anti-inflamatória.

² Composto orgânico pertencente ao grupo dos monoterpenos, encontrado sob a forma de 2 isômeros em óleos essenciais da hortelã-verde, cominho e endro.

2 MÉTODO

2.1 PERFIL DA MORTALIDADE POR CÂNCER DE MAMA NO BRASIL

Para tender ao primeiro objetivo da pesquisa, realizou-se um estudo documental retrospectivo com abordagem quantitativa, acerca dos óbitos por CM registrados no Atlas de Mortalidade *Online* do Instituto Nacional de Câncer (INCA). Foram consideradas as mortes ocorridas no Brasil entre 1987 e 2016, em mulheres e/ou homens, com idade entre 0 e mais de 99 anos.

Optou-se por avaliar o comportamento da TM por CM entre 1987 e 2016 por este período permitir a análise ao longo de 3 décadas, além de fornecer um panorama recente acerca do comportamento desse índice no país. Ainda, optou-se por avaliar a TM por CM em ambos os sexos, considerando o aumento da incidência e da mortalidade da doença tanto em homens como em mulheres. Por fim, optou-se por analisar uma faixa etária abrangente tendo em vista a idade como fator determinante reconhecido para o desenvolvimento da doença.

Inicialmente, analisou-se a TM por CM, ajustada para 100.000 homens e mulheres, com idade entre 0 e 99 anos e, entre 1987 e 2016, considerando o ajuste para a população do ano de 2000. Posteriormente, os dados foram analisados considerando a TM por CM ajustada para 100.000 homens ou mulheres, com idade entre 0 e mais de 99 anos, entre 1987 a 1996, 1997 a 2006 e 2007 a 2016, considerando o ajuste para a população dos anos de 1991, 2000 e 2010, respectivamente. Com base nos dados provenientes dessa etapa, calculou-se a progressão da mortalidade por CM de 2007 a 2016.

Por fim, realizou-se o levantamento da mortalidade por CM, ajustada para 100.000 homens e mulheres, considerando os intervalos de idade 0 a 4, 5 a 9, 10 a 14, 15 a 19, 20 a 29, 30 a 39, 40 a 49, 50 a 59, 60 a 69, 70 a 79 e 80 ou mais anos, entre 1987 e 1996, 1997 e 2006 e 2007 e 2016, considerando o ajuste para a população dos anos de 1991, 2000 e 2010, respectivamente.

Os dados coletados no Atlas de Mortalidade Online do INCA foram, então, analisados no *Software Prism GraphPad*, versão 5,00, gerando gráficos e possibilitando a análise. Para esta etapa não foram utilizados métodos estatísticos específicos, considerando a forma de análise descritiva.

2.2 ANÁLISE DO EFEITO ANTICÂNCER DOS TIAZÓIS E DA CARVONA

Para determinar o efeito anticâncer das substâncias propostas, atendendo ao segundo objetivo da pesquisa, fez-se necessária a realização de um estudo experimental, com abordagem quanti-qualitativa; este, por sua vez, desenvolveu-se no período de janeiro a fevereiro de 2019, no Laboratório de Biotecnologia Celular e Molecular do Centro de Ciências de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), coordenado pelo Professor Dr. Demetrius Antônio Machado de Araújo.

Os 20 tiazóis testados foram sintetizados e cedidos pelo Professor Dr. Juliano Rufino, da Unidade Acadêmica de Química, do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). Os 2 isômeros da carvona, por sua vez, foram obtidos da *Sigma Aldrich*.

Todas as substâncias, sintéticas e naturais, foram solubilizadas em Dimetilsulfóxido (DMSO), formando soluções estoques que, por sua vez, foram diluídas em meio de cultura, gerando as diferentes concentrações a serem testadas.

Para a realização dos ensaios, testou-se as substâncias em linhagens cancerígenas de mama, MDA-MB-231 e MCF-7, ambas obtidas do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ). Estas foram cultivadas em frascos estéreis de 25 e 75 cm², em meio *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) (MDA-MB-231) e *Roswell Park Memorial Institute Medium* (RPMI) (MFC-7), acrescidos de Soro Bovino Fetal (SBF) (10%) e antibióticos, Penicilina (100 U/mL) e Estreptomicina (100 µg/mL). Ademais, as linhagens foram mantidas em estufa, a uma atmosfera úmida à temperatura de 37° C e pressão de CO₂ de 5%.

Ressalta-se que as linhagens utilizadas foram monitoradas diariamente através da microscopia óptica invertida e tiveram seus meios de cultura trocados a cada 48 horas ou quando obtinham uma confluência de 90 a 100 %. Ademais, todo o procedimento de cultura foi realizado em capela de fluxo laminar, assegurando a esterilidade.

Antes da realização dos experimentos propriamente ditos, as células tiveram, ainda, sua viabilidade celular avaliada através do método de exclusão por azul de *tripan*, que baseia-se no fato de células vivas possuírem a membrana celular íntegra não permitindo que determinados corantes, como o azul de *tripan*, adentrem o meio intracelular. O contrário acontece com as células inviáveis, que, em virtude do rompimento de sua integralidade, permitem o influxo de azul de *tripan*, sendo

caracterizadas pela obtenção da coloração azul à microscopia óptica (STROBER, 2015).

Sendo assim, após constatada a obtenção de uma viabilidade igual ou superior a 90% pelas linhagens de CM, estas foram cultivadas em placas de 96 poços em uma densidade de 3×10^4 células/poço e tratadas durante 72 horas com os tiazóis e com a carvona em diferentes concentrações, para a realização do protocolo experimental de redução do brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium) (MTT), que quantifica o potencial de uma determinada substância de reduzir a viabilidade celular (DANTAS, 2018; SIMÕES, 2017; MORAES JÚNIOR 2017; COULIDIATI, 2014; DANTAS, 2014).

Após determinar as substâncias que apresentaram esse potencial, as linhagens celulares de CM foram tratadas com as substâncias que demonstraram essa capacidade e com a Doxorubicina, sendo submetidas a um outro protocolo experimental, a marcação com Iodeto de Propídio (IP) e *Hoechst* (HO), que, por sua vez, permite a observação de algumas características de morte celular (DANTAS, 2018; SIMÕES, 2017; MORAES JÚNIOR 2017; COULIDIATI, 2014; DANTAS, 2014).

Para tanto, as linhagens celulares com uma viabilidade celular igual ou superior a 90% foram cultivadas em placas de 6 poços, em uma concentração de 3×10^4 células/poço e, posteriormente, tratadas durante 24 horas as substâncias que apresentaram o potencial de redução da viabilidade celular.

As tabelas abaixo demonstram os reagentes e soluções (Tabela 1) e equipamentos (Tabela 2) utilizados para execução dos protocolos experimentais realizados nesse estudo.

Tabela 1 – Reagentes utilizados para execução dos protocolos experimentais da pesquisa.

EQUIPAMENTO	FABRICANTE
Azul de tripan	SIGMA
DMSO	VETEC
Estreptomicina	CULTILAB
HO	-
IP	SIGMA
MTT	AMRESCO
SDS	SIGMA
Penicilina	SIGMA
SBF	CULTILAB

Tabela 2 – Equipamentos utilizados para execução dos protocolos experimentais da pesquisa.

EQUIPAMENTO	FABRICANTE
Agitador de placas	IKA
Autoclave	PHOENIX LUFERICO
Balança analítica	CELTAC
Banho maria	NOVA ÉTICA
Centrífuga refrigerada	HERMLE
Destilador	CRISTÓFOLI
Estufa de CO	ULTRASAFE
Estufa de secagem	DE LEO
Fluxo laminar	PACHANE
Freezer - 86° C	INDREL
Leitor de microplacas	BIOTEK
pHmetro	LABMETER
Vórtex	VERTEX
Ultrapurificador	SCHOLAR-UV

2.2.1 Ensaio colorimétrico de redução do MTT

A técnica de redução do MTT tem sido amplamente explorada nas pesquisas relacionadas ao câncer de modo geral. Sua abordagem possibilita a avaliação concomitante da viabilidade, citotoxicidade e proliferação celular. Ela surgiu do fato de que células vivas possuem a capacidade de catalisar reações, produzindo produtos mensuráveis através da colorimetria (CHAN et al., 2013).

A redução do sal MTT ocorre principalmente nas mitocôndrias de células vivas a partir da atividade de desidrogenases mitocondriais, sobretudo a succinato desidrogenase, que reduz o sal de tetrazólio, uma substância solúvel e de cor amarela, a cristais de formazan, insolúveis e de coloração púrpura. A intensidade da cor mensurada é proporcional à atividade da enzima e, assim, à viabilidade celular (CHAN et al., 2013).

O ensaio de redução de MTT foi realizado em placas de 96 poços, em que as células viáveis foram cultivadas e incubadas em uma densidade de células por poço de 3×10^4 . Passado o período de adesão (24 horas), essas mesmas células foram tratadas com os tiazóis e com a carvona em diferentes concentrações, sendo então alocados em uma incubadora, a uma temperatura de 37° C e pressão de CO₂ de 5% durante 72 horas.

Após o tratamento, as células foram centrifugadas e, então, tiveram parte do seu sobrenadante removido. Assim, adicionou-se aos poços contendo as células o MTT em uma concentração de 5 mg/ml. Passadas 4 horas – tempo necessário para que haja a metabolização do MTT em azul de formazan – foi adicionado às placas a solução de Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) que rompe a membrana plasmática e dissolve os cristais de formazan.

Por fim, as placas foram alocadas no agitador de placas durante o período *overnight* e foram analisadas através do espectrofotômetro do tipo ELISA, com filtro de 570 nm. Os números em absorbância, demonstrados por esse aparelho, foram transferidos para o *Software GraphPad Prism*, versão 5.0, o que permitiu a conversão desses dados em viabilidade celular. Através do programa estatístico, calculou-se, ainda, a Concentração Inibitória Média (CI₅₀), a partir da curva de regressão não linear.

A análise estatística foi realizada mediante 3 experimentos independentes, sob o teste *one-way* ANOVA, seguido do pós-teste *Bonferroni*, sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$ em relação ao controle.

2.2.2 Ensaio de marcação com Iodeto de Propídeo e *Hoechst*

A marcação com IP constitui um dos principais ensaios para avaliação do processo de morte celular. O IP atua como um fluoróforo que se liga ao material genético celular quando a membrana plasmática se encontra rompida, fornecendo um indicativo de diferentes tipos de morte celular (CROWLEY et al., 2016; PIETKIEWICZ; SCHIMIDT; LAVRIK, 2015).

O HO, assim como o IP, é ligado ao material genético, sem que seja necessário, no entanto, a degradação da membrana celular. O ensaio permite, ainda a observação da conformação nuclear. Dessa forma, um (Ácido Desoxirribonucleico) DNA condensado caracteriza a morte celular por apoptose, enquanto o material genético não condensado, fornece um indicativo de necrose (CROWLEY, 2016).

Desse modo, as células de CM com uma viabilidade igual ou superior a 90%, foram semeadas em placas de 6 poços em uma densidade de 3×10 células/poço e, após o período de adesão (24 horas), passaram pelo tratamento com os tiazóis, a carvona e a Doxorrubicina – um fármaco utilizado como controle – durante o período de 24 horas. Seguidamente, as células foram lavadas com PBS e centrifugadas e,

então, ressuspendidas com IP ou HO, passando por um período de incubação no escuro de 30 minutos.

O protocolo experimental de avaliação do processo de morte celular findou-se com a análise através da microscopia eletrônica de fluorescência. Essa análise foi meramente qualitativa, dispensando a utilização de métodos estatísticos

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 MORTALIDADE POR CM NO BRASIL

3.1.1 Mortalidade por câncer de mama independente do sexo e da faixa etária. Brasil, 1987 a 2016

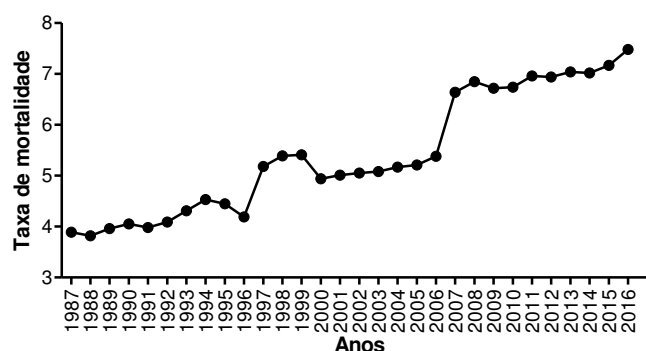
Os dados provenientes desta etapa consideraram a TM por CM no Brasil ajustada pela população brasileira de 2010, por 100.000, independente do sexo e da faixa etária, entre 1987 e 2016. A partir dela, constatou-se que, em 1987 a TM por CM no Brasil foi de 3,89. Em 2016, esse coeficiente passou a adotar o valor de 7,48, demonstrando que a TM por CM aumentou 1,92 vezes ao longo dos 30 anos analisados (Figura 1).

Como característico de um país em desenvolvimento, o Brasil tem passado a adotar estilos de vida que se constituem como predisponentes ao desenvolvimento do CM, como o sedentarismo, a obesidade e o uso da contracepção oral e da terapia de reposição hormonal pós menopausa; consoante a isso, a adoção de fatores de proteção, como a paridade e a amamentação, tem se tornado cada vez mais restrita (TORRE et al., 2015; CHLEBOWSKI et al., 2013).

Esse cenário tem acarretado o aumento da incidência do CM, e, conseqüentemente, a demanda de recursos destinados a essa área; no entanto, o financiamento atual da política à pessoa com CM no Brasil não atende a essa necessidade e não considera as especificidades populacionais – como o acesso limitado aos serviços de referência no diagnóstico e tratamento da doença por boa parte da população brasileira – o que compromete a obtenção da cura e, por sua vez, tem reflexo na elevação da mortalidade por essa causa, como corroborado pelos resultados deste estudo (INCA, 2014).

Ademais, nos países pertencentes à União Europeia – aos quais correspondem os maiores índices de mortalidade por CM, com valores variantes entre 11 e 20 por 100.000 mulheres – a mortalidade por CM tem sido reduzida em virtude da ocorrência de melhorias no diagnóstico e tratamento da doença, o que reitera a imprescindibilidade da qualidade da assistência para a redução desse índice e revela a necessidade de se rever o manejo assistencial da pessoa com CM no Brasil (CARIOLI et al, 2017).

Figura 1 – Taxa de mortalidade por câncer de mama no Brasil ajustada pela população brasileira de 2010, por 100.000, independente do sexo e da faixa etária, entre 1987 e 2016.



Fonte: Autoria própria. Adaptado do Atlas Online de Mortalidade por Câncer, Copyright© 2001-2016. INCA. MS.

3.1.2 Mortalidade por câncer de mama segundo o sexo e independente da faixa etária. Brasil, 1987 a 1996, 1997 a 2006 e 2007 a 2016

Observando a distribuição da TM por CM segundo o sexo, verificou-se que, ao considerar o sexo feminino e o ajuste populacional para 100.000 mulheres, o coeficiente de mortalidade foi, entre 1987 e 1996, de 7,81; entre 1997 e 2006, de 9,60; e, entre 2007 e 2016, de 12,75. Ou seja, houve um aumento de 1,22 vezes entre o primeiro e o segundo período; 1,32 vezes entre o segundo e o terceiro período; e 1,63 vezes entre o primeiro e o terceiro período analisados (Figura 2).

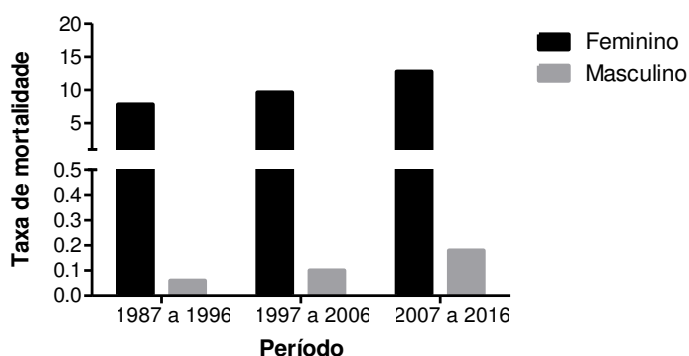
Com relação ao sexo masculino, a TM de mortalidade por CM ajustada para 100.000 homens foi de 0,06 entre 1987 e 1996; 0,10 entre 1997 e 2006; e 0,18 entre 2007 e 2016. Isso implica em um aumento de 1,66 vezes entre o primeiro e o segundo período; 1,80 vezes entre o segundo e o terceiro período; e 3 vezes entre o primeiro e o terceiro período analisados (Figura 2).

Como já observado no item anterior, o aumento progressivo da mortalidade por CM no Brasil é um reflexo da elevação da incidência da doença, associada a existência de lacunas na assistência à pessoa com CM no Brasil (TORRE et al., 2015; CHLEBOWSKI et al., 2013). Isso justifica a progressão desse índice sobretudo no sexo feminino, no entanto, no sexo masculino esse aumento ocorre de modo mais expressivo, fomentando a ideia da existência de especificidades inerentes a esse grupo que necessitam serem discutidas de modo a justificar esse cenário.

Nesse sentido, o principal fator a ser discutido envolve o modelo hegemônico de masculinidade que tem influência direta na busca tardia dos serviços de saúde pelos homens e que, por sua vez, relaciona-se com diagnóstico do CM quando este encontra-se em estágios avançados, diminuindo significativamente as chances de sobrevida a doença e aumentando a mortalidade por essa causa (CONNEL; MESSERSCHMIDT, 2013).

Ademais, o manejo assistencial da doença é pouco específico para a população masculina, o que culmina na progressão da mortalidade mais que no sexo feminino, em que, apesar dos obstáculos assistenciais, as linhas de cuidados são bem estabelecidas (ANDERSON et al., 2010; GIORDANO et al., 2004; GOSS et al., 1999).

Figura 2 – Taxa de mortalidade por câncer de mama no Brasil ajustada pela população brasileira de 1991, 2000 ou 2010, por 100.000, segundo sexo e por período selecionado.



Fonte: Autoria própria. Adaptado do Atlas Online de Mortalidade por Câncer, Copyright© 2001-2016. INCA. MS.

3.1.3 Progressão da mortalidade por câncer de mama segundo o sexo e por período selecionado. Brasil, 2017 a 2107

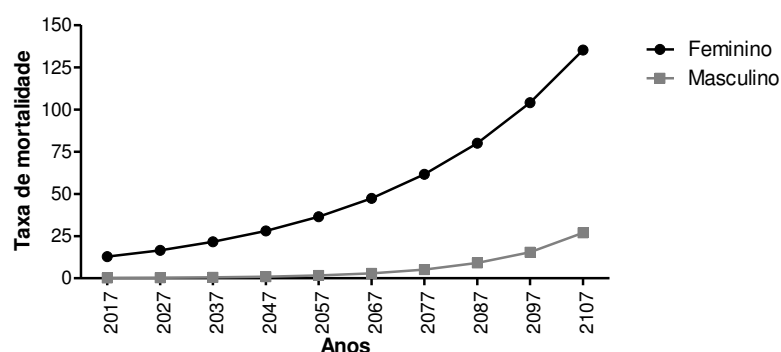
Ao estimar a progressão da mortalidade por CM até 2107 considerando os valores elencados no item anterior, percebe-se que, se o contexto assistencial do CM no Brasil permanecer o mesmo, em 2107 a mortalidade por essa doença estará em torno dos 135,16 por 100.000 mulheres e 26,90 por 100.000 homens. Isso caracteriza um aumento de 10,60 vezes no sexo feminino e 149,44 vezes no sexo masculino (Figura 3).

O cenário acima descrito sintetiza as informações abordadas nos dois últimos itens; isto é, reitera a necessidade de se intervir com melhorias na assistência à

pessoa com CM no Brasil, ao passo que revela a carência do público masculino de ser visto nesse âmbito assistencial.

Nesse sentido, a sensibilização da população por meio da educação em saúde, com ênfase no público masculino, mostra-se como uma importante ferramenta para a redução do índice de mortalidade e o não cumprimento dessa estimativa.

Figura 3 – Progressão da taxa de mortalidade por câncer de mama no Brasil em 90 anos, segundo o sexo e por período selecionado.



Fonte: Autoria própria. Adaptado do Atlas Online de Mortalidade por Câncer, Copyright© 2001-2016. INCA. MS.

3.1.4 Mortalidade por câncer de mama segundo a faixa etária e o sexo. Brasil, 1987 a 1996, 1997 a 2006 e 2007 a 2016

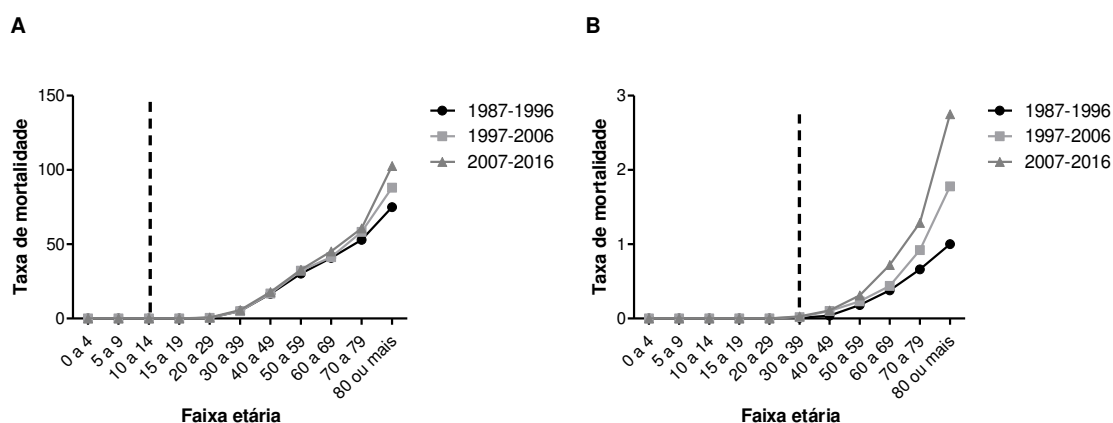
Ao considerar a TM por CM ajustada para 100.000 habitantes, em ambos os sexos e observando a faixa etária, observou-se que a mortalidade por CM no Brasil tem registros a partir dos 10 anos no sexo feminino e dos 30 anos no sexo masculino; no entanto, a partir dos 30 e 40 anos, os índices relativos à mortalidade tornam-se mais expressivos, respectivamente, nos homens e nas mulheres.

No sexo feminino, entre os 30 e 39 anos – idade em que os índices começam a intensificar-se – a mortalidade foi de aproximadamente 5,21 por 100.000 mulheres e, a partir dos 80 anos, de 88,56 por 100.000 mulheres (Figura 4 A). Com o sexo masculino, por sua vez, entre os 40 e 49 anos, a mortalidade foi de aproximadamente 0,20 por 100.000 homens e, a partir dos 80 anos, de 1,84 por 100.000 homens (Figura 4 B). Dessa forma, verifica-se que há uma relação de proporcionalidade entre o aumento da idade e mortalidade que independe do sexo.

Acredita-se que esses resultados estejam associados a relação de proporcionalidade existente entre o número de anos vividos e a maior exposição a

fatores de risco extrínsecos. Além disso, sabe-se que o envelhecimento representa uma condição que fragiliza o organismo, tornando as chances de sobrevivência a doença limitadas, a depender do tipo do tumor (INCA, 2014).

Figura 4 – Distribuição da TM por CM no Brasil segundo a faixa etária no sexo feminino (A) e no sexo masculino (B) ao longo dos períodos de 1987 a 1996, 1997 a 2006 e 2007 a 2016.



Fonte: Autoria própria. Adaptado do Atlas Online de Mortalidade por Câncer, Copyright© 2001-2016. INCA. MS.

3.2 ANÁLISE DO EFEITO ANTICÂNCER DOS TIAZÓIS E DA CARVONA

Os resultados deste estudo revelam que, independente do sexo e da faixa etária, a mortalidade por CM no Brasil tem adotado um perfil crescente ao longo dos anos. Ao relacionar essa informação ao fato de que a redução da mortalidade por CM em países desenvolvidos economicamente tem sido atribuída a maior acessibilidade da população a detecção precoce e ao tratamento da doença, entende-se que a política assistencial à pessoa com CM no Brasil encontra-se fragilizada, carecendo de melhorias (RAHIMZADEH et al., 2014).

Importa ressaltar que, nesse sentido, o avanço no rastreamento e no tratamento do CM é imprescindível à redução da mortalidade por essa causa. Considerando esse fator, retoma-se o segundo objetivo da pesquisa, realizando-se, para tanto a triagem preliminar de 21 moléculas – sendo 20 derivados do tiazol e os 2 isômeros da carvona – ainda não testadas visando determinar seus respectivos efeitos anticâncer.

3.2.1 Avaliação da viabilidade celular

Para determinar o efeito dos tiazóis e da carvona na redução do metabolismo e, conseqüentemente, da viabilidade celular, utilizou-se o ensaio de redução do MTT – sendo os dados expressos como valor de CI_{50} . Assim, verificou-se que nenhum dos 20 tiazóis estudados apresentou citotoxicidade às linhagens de CM, MDA-MB-231 e MCF-7, uma vez que a CI_{50} obtida pelas moléculas foi maior que 200 μ M para ambas as linhagens (Tabela 1).

A carvona, por outro lado, reduziu a viabilidade das linhagens estudadas, fornecendo um indicativo de citotoxicidade. A CI_{50} da MDA-MB-231 foi de 2,76 mM pela (S)-(+ carvona e 2,03 mM, pela (R)-(-) carvona); da MCF-7, por sua vez, foi de 3,18 mM pela (S)-(+ carvona) e 2,18 mM pela (R)-(-) carvona) (Tabela 1). Ademais, foi observado que em ambas as linhagens estudadas a redução da viabilidade celular pela carvona ocorreu em função do aumento da concentração, o que caracteriza uma ação dependente da concentração (Figura 5).

Ao comparar esses resultados com os de outros estudos, constatou-se que os tiazóis aqui analisados revelam potencial de apresentarem outros efeitos além do antitumoral, tendo em vista as diversas atividades biológicas que cabem a esse grupo, sendo a antiparasitária, antibacteriana, antifúngica, e antirretroviral as mais destacadas (GOMES et al., 2016; REDDY et al., 2016; XU et al., 2016). Ademais, sugere-se que as substâncias testadas não sejam tóxicas ao organismo humano, tendo em vista sua baixa citotoxicidade às linhagens celulares analisadas neste estudo.

Importa ressaltar que as linhagens MDA-MB-231 e MCF-7, são, respectivamente, sensíveis e resistentes à terapia hormonal, o que significa dizer que, apesar dos produtos sintéticos não obterem o efeito esperado, os produtos naturais analisados neste estudo demonstraram-se promissores ao desenvolvimento de uma nova terapia química contra o CM, tendo em vista que as linhagens celulares estudadas representam tanto tipos de CM com melhores prognóstico como os de pior (TORRE et al, 2015).

Acerca da bioatividade anticancerígena da carvona, alguns estudos revelaram o potencial citotóxico de compostos dos quais a carvona faz parte em linhagens celulares cancerígenas, o que corrobora os resultados desse estudo (MOLLAZADEH; AFSHARI; HOSSEINZADEH, 2017; MO et al., 2019; SHAROPOV et al., 2018).

Um outro estudo trouxe, no entanto, de forma específica, a atividade citotóxica da carvona (R)-(-) em linhagens de MDA-MB-231 e MCF-7, reafirmando os resultados

do presente estudo. Esse estudo revelou, ainda, a não citotoxicidade da (R)-(-) carvona em linhagens humanas não cancerígenas; assim, apesar da necessidade de realização de estudos posteriores, acredita-se que, ao considerar a similaridade destes isômeros, a (S)-(+) carvona apresente a mesma característica (PATEL; THAKKAR, 2014). Ressalta-se o ineditismo desta pesquisa, tendo em vista que os resultados aqui discutidos trazem um resultado não discutido na literatura.

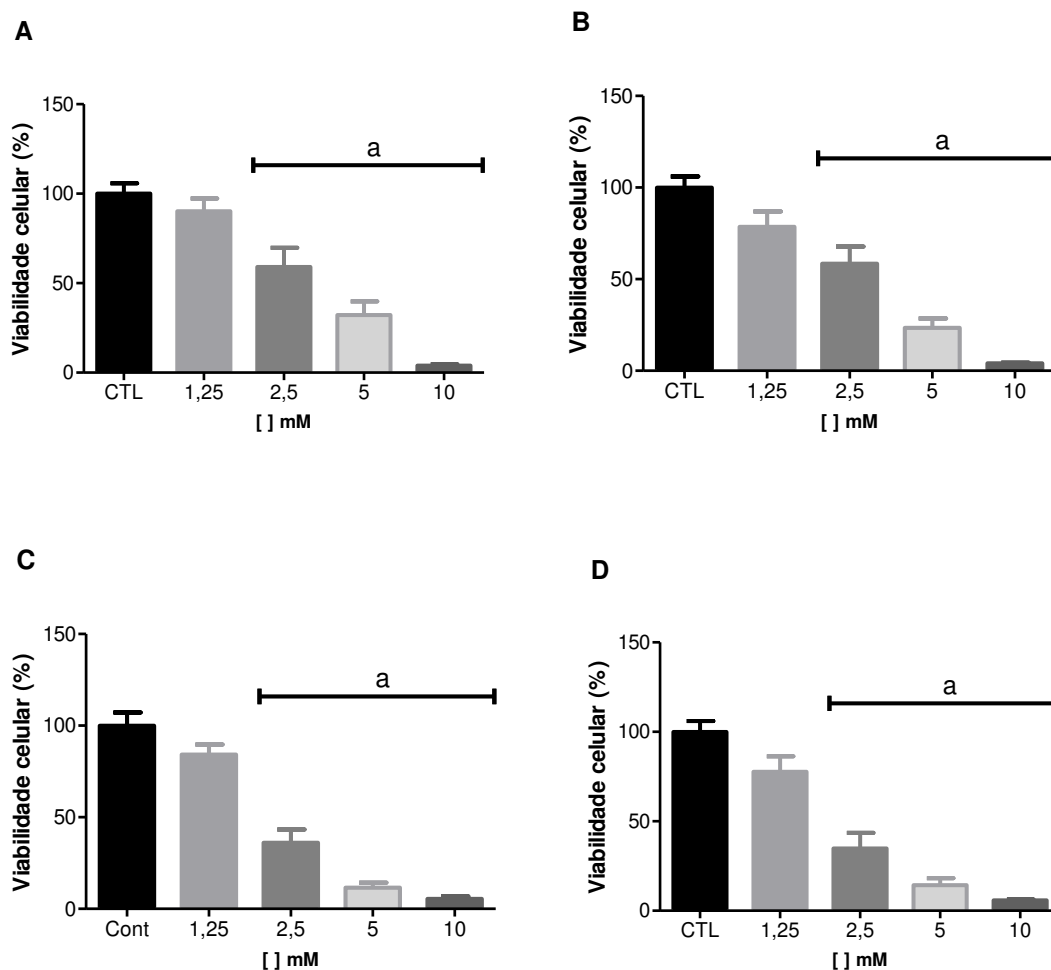
Tabela 3 – $CI_{50} \pm$ Erro Padrão da Média (EPM) das linhagens celulares MDA-MB-231 e MCF-7 após 72 horas de tratamento com os 20 compostos derivados do núcleo tiazol e com a (+) carvona e (-) carvona.

	MDA-MB-231	MCF-7
CS-01	> 200 μ M	> 200 μ M
CS-02	> 200 μ M	> 200 μ M
CS-03	> 200 μ M	> 200 μ M
CS-04	> 200 μ M	> 200 μ M
CS-05	> 200 μ M	> 200 μ M
CS-06	> 200 μ M	> 200 μ M
CS-09	> 200 μ M	> 200 μ M
CS-10	> 200 μ M	> 200 μ M
CS-11	> 200 μ M	> 200 μ M
CS-12	> 200 μ M	> 200 μ M
CS-13	> 200 μ M	> 200 μ M
CS-15	> 200 μ M	> 200 μ M
CS-16	> 200 μ M	> 200 μ M
CS-17	> 200 μ M	> 200 μ M
CS-18	> 200 μ M	> 200 μ M
CS-19	> 200 μ M	> 200 μ M
CS-20	> 200 μ M	> 200 μ M
CS-21	> 200 μ M	> 200 μ M
CS-23	> 200 μ M	> 200 μ M
CSJ-K	> 200 μ M	> 200 μ M
(+) carvona	2,76 \pm 3,99 mM	3,18 \pm 1,08 mM
(-) carvona	2,03 \pm 2,55 mM	2,18 \pm mM

*Dados obtidos de 3 experimentos independentes, realizados em triplicata.

Fonte: dados da pesquisa.

Figura 5 – Avaliação do efeito citotóxico da (+) carvona em MDA-MB-231 (A) e MCF-7 (B) e da (-) carvona em MDA-MB-231 (C) e MCF-7 (D), durante o período de 72 horas através do ensaio de redução do MTT



Fonte: dados da pesquisa

3.2.2 Avaliação de características de morte celular

Como já mencionado, o ensaio de MTT estima o comprometimento do metabolismo celular; no entanto, a citotoxicidade não é totalmente esclarecida por essa técnica. Sendo assim, com a finalidade de confirmar a morte das linhagens cancerígenas, a carvona, que apresentou um potencial de citotoxicidade, foi submetida ao ensaio de marcação com *Hoechst* (HO) e Iodeto de Propídeo (IP).

Como esperado, todas as células foram marcadas com o HO, tendo em vista que o fluoróforo consiste em um marcador nuclear, que atravessa a membrana celular independente dela estar rompida, ou seja, independente da viabilidade celular (CROWLEY et al., 2016). Acerca da morfologia nuclear, verificou-se que os núcleos de várias células demonstraram um contorno fragmentado e material genético

condensado, características pertinentes a morte celular por apoptose (Figura 6 e Figura 7) (CROWLEY et al., 2016).

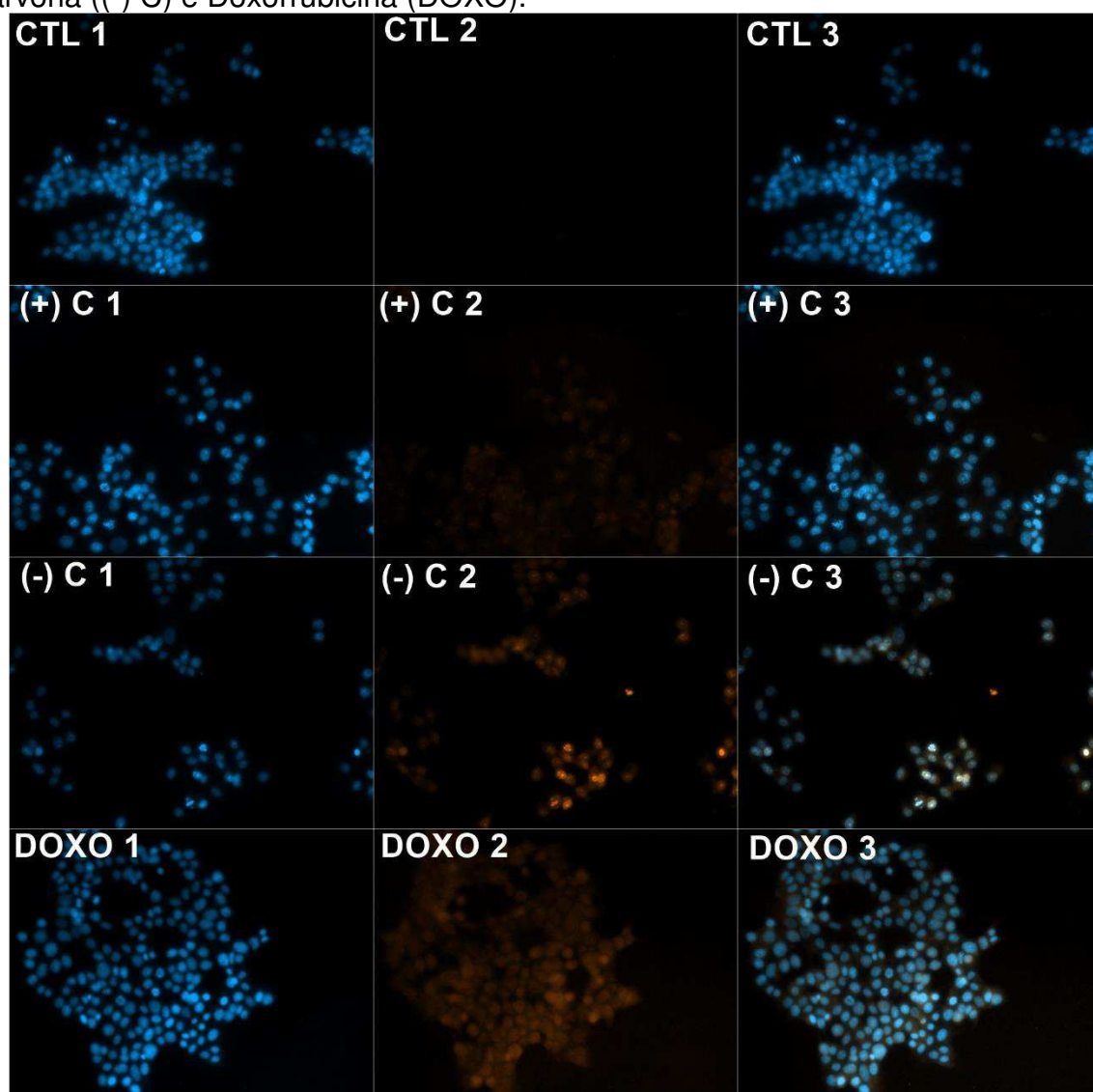
Com relação ao IP, verificou-se que a maioria das células foi marcada por esse fluoróforo. Essa marcação só é possível em condições que promovem o rompimento da membrana celular, o que permite a ligação do IP com o material genético e confirma a morte das células e, conseqüentemente, a citotoxicidade da carvona (Figura 6 e Figura 7) (CROWLEY et al, 2016).

Além disso, os resultados demonstram que, independente da linhagem, ambos os isômeros da carvona obtiveram uma marcação celular por HO e IP equiparável ao da Doxorrubicina, um quimioterápico já usado na clínica para o tratamento do CM (Figura 6 e Figura 7).

Os resultados obtidos no presente estudo convergem com as informações de outros, realizados com nos quais o processo de morte por apoptose foi sugerido em compostos dos quais a carvona faz parte e na (R)-(-)-carvona de forma específica (PATEL; THAKKAR, 2014; MOLLAZADEH; AFSHARI; HOSSEINZADEH, 2017; MO et al., 2019; SHAROPOV et al., 2018).

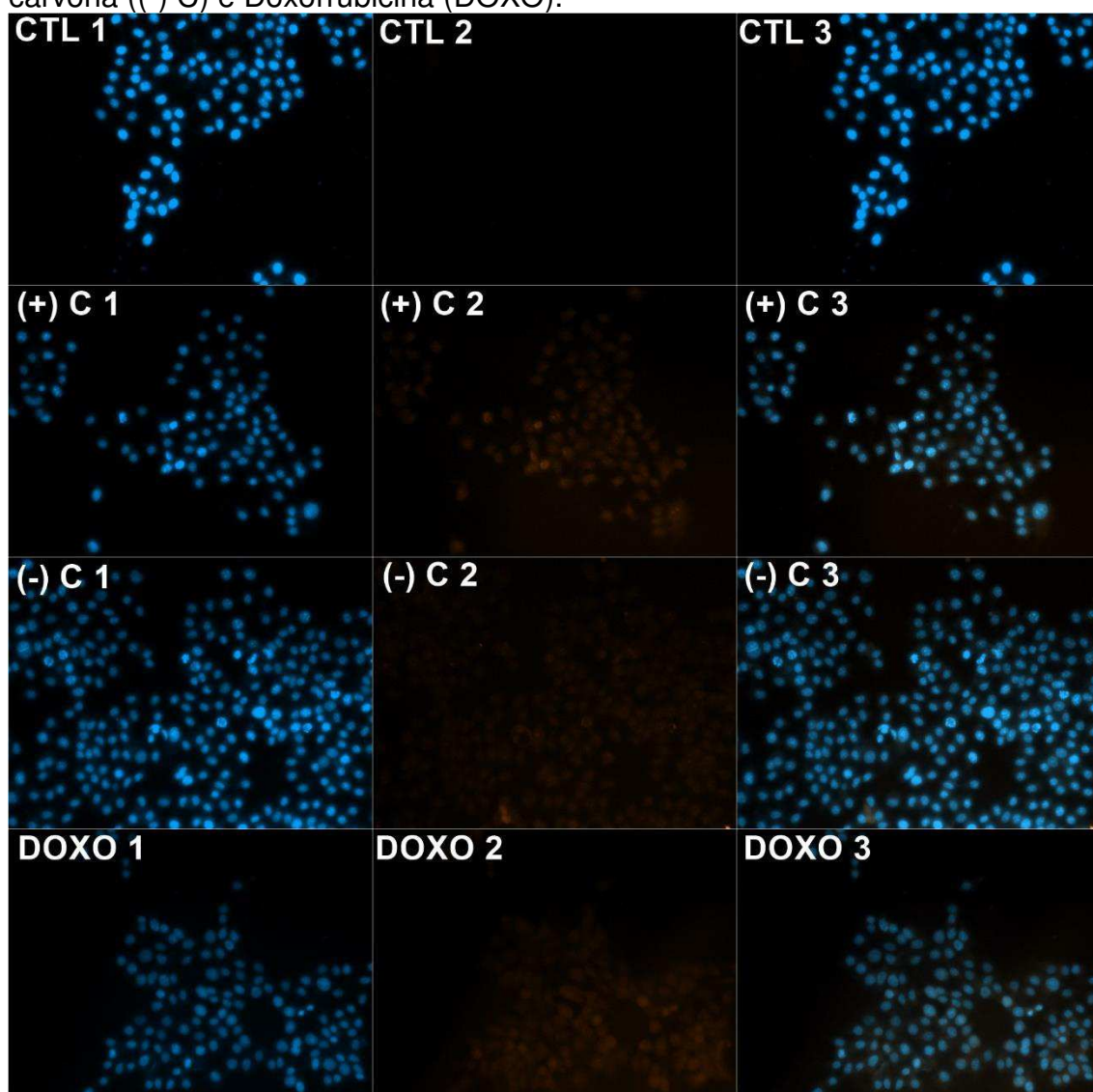
Ademais, sabe-se que a carvona constitui um dos componentes encontrados nos óleos essenciais de cominho (*Carum carvi*) e hortelã (*Mentha spicata*) e – sendo a (+) carvona presente nesse primeiro e a (-) carvona no segundo –, ambas as especiarias corriqueiras nas preparações culinárias brasileiras (GONÇALVES et al., 2010; LAMBERT; COMPTON; CRAWFORD, 2012; SOUZA et al., 2013). Ao agregar esses resultados à essa informação surge a sugestão de que a carvona tenha em sua composição as características necessárias à prevenção primária da doença.

Figura 6 – Resultados da marcação com *Hoechst* e IP em células MDA-MB-231 não tratadas (CTL) e após 24 horas de tratamento com a (S)-(+)-carvona ((+) C), (R)-(-)-carvona (-) C e Doxorrubicina (DOXO).



Fonte: dados da pesquisa

Figura 7 – Resultados da marcação com *Hoechst* e IP em células MDA-MB-231 não tratadas (CTL) e após 24 horas de tratamento com (S)-(+ carvona ((+) C), (R)-(-) carvona (-) C) e Doxorrubicina (DOXO).



Fonte: dados da pesquisa.

4 CONCLUSÕES

Com relação ao perfil da mortalidade por CM no Brasil entre 1987 e 2016, constatou-se que o indicador apresentou um comportamento crescente ao longo do período analisado em ambos os sexos. Considerando a especificação por sexo, verificou-se que ao sexo feminino corresponderam os valores mais elevados, no entanto, no sexo masculino o aumento foi mais expressivo. Acerca da especificação por faixa etária, observou-se que, os valores aumentam em conformidade com o sexo, especialmente a partir dos 30 anos para as mulheres e 40 anos para os homens.

Dessa forma, os resultados mostram-se inéditos ao comparar a progressão da TM por CM no sexo feminino com a do sexo masculino, revelando que, apesar dos valores baixos, nos homens o aumento ocorre com uma progressão maior que nas mulheres, deixando explícita a necessidade de implementação de políticas voltadas também a esse público, sobretudo na forma de educação em saúde, de modo a intervir na mudança do modelo hegemônico de masculinidade.

Por fim, os resultados revelam a fragilidade assistencial em que se encontra a pessoa com CM no Brasil, evidenciando a necessidade de implementação de melhorias no âmbito da política de atenção a pessoa com CM, sobretudo no que se refere ao investimento em estratégias que proporcionem o diagnóstico precoce e o tratamento em tempo hábil.

Com relação à porção experimental da pesquisa, constatou-se que os tiazóis analisados não apresentaram o potencial de citotoxicidade esperado nas linhagens celulares de CM. A carvona, por outro lado, reduziu a viabilidade celular dessas linhagens, demonstrando esse potencial.

Desse modo, a partir dos resultados dessa pesquisa pode-se inferir que os tiazóis analisados apresentam outras atividades biológicas a serem buscadas – como a antibiótica, antifúngica e antiparasitária – sobretudo ao considerar sua versatilidade estrutural e seu baixo potencial citotóxico em linhagens humanas, mesmo estas sendo cancerígenas.

Ademais, de forma inédita, demonstrou-se a citotoxicidade da carvona em linhagens cancerígenas em ambos os isômeros, sugerindo, ainda, a que esse composto possa ser útil na prevenção primária do CM. Assim, espera-se que em estudos futuros haja a elucidação as vias moleculares que caracterizam essa atividade.

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, W. F. *et al.* *Male breast cancer: a population-based comparison with female breast cancer.* **Journal of Clinical Oncology**, v. 10, n. 2, p. 232-239, 2010. Disponível em: https://ascopubs.org/doi/full/10.1200/JCO.2009.23.8162?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Aacrossref.org&rfr_dat=cr_pub%3Dpubmed. Acesso em: 20 mai. 2019.
- CARIOLI, G. *Trends and predictions to 2020 in breast cancer mortality in Europe.* **Breast. The Breast**, v. 36, p. 89-95, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960977617304642?via%3Dihub>. Acesso em: 16 mai. 2019.
- CHAN, G. K. *et al.* *A simple high-content cell cycle assay reveals frequent discrepancies between cell number and ATP and MTS proliferation assays.* **PLoS One**, v. 8, n.5, 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3656927/>. Acesso em: 11 nov. 2018.
- CHLEBOWSKI, R. T. *et al.* *Estrogen plus progestin and breast cancer incidence and mortality in the Women's Health Initiative Observational Study.* **Journal of the National Cancer Institute**, v. 105, n. 8, p. 526-535, 2013. Disponível em: <https://academic.oup.com/jnci/article/105/8/526/912822>. Acesso em: 20 mai. 2019.
- CONNEL, R. W.; MESSERSCHMIDT, J. M. Masculinidade hegemônica: repensando o conceito. **Estudos Feministas**, v. 21, n. 1, p. 241-282, 2013. Disponível em: <https://periodicos.ufsc.br/index.php/ref/article/view/S0104-026X2013000100014/24650>. Acesso em 09 jul. 2019.
- COULIDIATI, T. H. **Avaliação dos efeitos anticancerígenos dos 1,2,3-triazóis derivados do núcleo 1,4-naftoquinona em linhagens leucêmicas humanas.** 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Campina Grande, João Pessoa, 2014.
- CROWLEY, L. C. *et al.* *Analyzing cell death by nuclear staining with Hoechst 33342.* **Cold Spring Harbor Protocols**, n. 9, 2016. Disponível em: <http://cshprotocols.cshlp.org/content/2016/9/pdb.prot087205.long>. Acesso em 21. mai. 2019.
- CROWLEY, L. C. *et al.* *Measuring Cell Death by Propidium Iodide Uptake and Cytometry.* **Cold Spring Harbor Protocols**, n. 7, p. 647-651, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27371595>. Acesso em: 3 dez. 2018.
- DANTAS, B. B. **Avaliação do efeito anticâncer de compostos sintéticos derivados do núcleo tetraidropirano.** Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal de Campina Grande, João Pessoa, 2014.
- DANTAS, B. B. **Potencial efeito anticâncer da lectina *Canvalia brasiliensis* (ConBr).** 2018. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2018.

FIGUEIREDO, F. D. S *et al.* *The role of health policy in the burden of breast cancer in the burden of breast cancer in Brazil.* **BioMed Central Womens Health**, v. 17, p. 121, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5704361/#CR12>. Acesso em: 24 mai. 2018.

GIORDANO, S. H. *et al.* *Breast cancer in men: a population-based study.* **Cancer**, v. 101, n. 1, p. 51-57, 2004. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cncr.20312>. Acesso em: 20 mai. 2019.

GOMES, P. A. T. M. *et al.* *New 1,3-thiazole derivatives and their biological and ultrastructural effects on Trypanosoma Cruzi.* **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 121, p. 387-398, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523416304482?via%3Dihub>. Acesso em: 21 mai. 2019.

GOSS, P. E. *et al.* *Male breast carcinoma: a review of 229 patients who presented to the Princess Margaret Hospital during 40 years: 1955-1996.* **Cancer**, v. 85, n. 3, p. 629-639, 1999. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10091736/>. Acesso em: 20 mai. 2019.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (Brasil). Estimativa 2014: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2014. Disponível em: https://www.inca.gov.br/bvscontrolecancer/publicacoes/Estimativa_2014.pdf. Acesso em: 19 mai. 2019.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). Lyon: IARC, 2014. Disponível em: <https://www.drugsandalcohol.ie/28525/1/World%20Cancer%20Report.pdf>. Acesso em: 24 mai. 2019.

JAIN, S. *et al.* *Anticancer potential of thiazole derivates: a retrospective review.* **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 18, n. 8, p. 640-655, 2018. Disponível em: <http://www.eurekaselect.com/157757/article>. Aceso em: 09 jul. 2019.

LI, C.; WANG, P. *An age-period-cohort analysis off emale brast cancer mortality from 1990-2009 in China.* **International Journal for Equity in Health**, v. 14, n. 76, 2015. Disponível em: <https://equityhealthj.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12939-015-0211-x>. Acesso em: 21 mai. 2019.

MO, H. *et al.* *The potential of isoprenoids in adjuvante cancer therapy to reduce adverse effects of statins.* **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, p. 1515, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6328495/>. Acesso em: 21 mai. 2019.

MOLLAZADEH, H; AFSHARI, A. R.; HOSSEINZADEH, H. *Review on the Potential Therapeutic Roles of Nigella sativa in the Treatment of patients with cancer: involvement of apoptosis: black cumin and cancer.* **Journal of harmocopuncture**, v.

20, n. 3, p. 158-172, 2017. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5633668/>. Acesso em: 21 mai. 2019.

MORAES JÚNIOR, M. O. **Avaliação do efeito citotóxico e antileucêmico de adutos de Heck**. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biotecnologia) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017.

PATEL, P. B. THAKKAR, V. R. *L-carvone induces p53, caspase 3 mediated apoptosis and inhibits the migration of breast cancer cell lines*. **Nutrition and Cancer**, v. 66, n.3, p. 453-462, 2014. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24611509>. Acesso em: 21 mai. 2019.

PIETKIEWICZ, S.; SCHIMIDT, J. H.; LAVRIK, I. N. *Quantification of apoptosis and necrosis at the single cell level by a combination of images flow cytometry with classical annexin V/propidium iodide staining*. **Journal of immunological methods**, v. 423, p. 99-103, 2015. Disponível em:
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25975759>>. Acesso em: 3 dez. 2018.

REDDY, G. M. *et al. Synthesis antimicrobial activity and advances in structure-activity relationships (SARs) of novel tri-substituted thiazole derivatives*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 123, p. 508-513, Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523416306250?via%3Dihub>. Acesso em: 21 mai. 2019.

ROCHA-BRISCHILIARI, S. C. *et al. The rise in mortality from breast cancer in Young women: trend analysis in Brazil*. **Plos One**, v. 12, n. 1, 2017. Disponível em:
<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0168950>. Acesso em: 21 mai. 2019.

SHAROPOV, F. *et al. Cytotoxicity of the essential oil of fennel (Foeniculum vulgare) from Tajikistan*. **Foods**, v. 6, n. 9, p. 73, 2018. Disponível em:
<https://www.mdpi.com/2304-8158/6/9/73>. Acesso em: 21 mai. 2019.

SIMÕES, L. A. A. **Efeito citotóxico do composto Fistularin 3 em células de leucemia monocítica aguda**. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biotecnologia) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017.

STEWART, B. W.; WILD, C. P. *International Agency for Research on Cancer (IARC)*. 2018. **Word cancer report**. 2014. Disponível em:
<<http://www.thehealthwell.info/node/725845>>. Acesso em: 25 nov. 2018.

STROBER, W. *Trypan blue exclusion test of cell viability*. **Current Protocols in immunology**, v. 111, n. 1, p. 1-3, 2015. Disponível em:
<https://currentprotocols.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/0471142735.ima03bs111>. Acesso em: 11 nov. 2018.

TORRE, L. A. *et al. Global cancer statistics, 2012*. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 65, n. 2, p. 87-108, 2015. Acesso em: 14 abr. 2019. Disponível em:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3322/caac.21262#caac21262-fig-0004>

XU, Z. *et al.* 2,4,5- Trisubstituted thiazole derivatives as HIV-1 NNRTIs effective on both wild-type and mutante HIV-1 reverse transcriptase: Optimization of the substitution of positions 4 and 5. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 123, p. 309-316, 2016. Disponível em: <http://ir.nsfc.gov.cn/bitstream/00001903-5/497366/1/1000018410898.pdf>. Acesso em: 21 mai. 2019.