UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Ilha Solteira

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA

Elivelton Firmino Alves

A ação da piperina na indução da apoptose de células tumorais, por meio do ensaio de citometria de fluxo: Uma revisão sistemática

Ilha Solteira
2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Ilha Solteira

Elivelton Firmino Alves

A ação da piperina na indução da apoptose de células tumorais, por meio do ensaio de citometria de fluxo: Uma revisão sistemática

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado à Faculdade de Engenharia, Campus de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", como parte das exigências para obtenção do título de Bacharelado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profª. Drª. Karine Assis Costa

Co-orientadora: Profª. Drª. Flávia Cristina Rodrigues Lisoni

Ilha Solteira
2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Ilha Solteira

Elivelton Firmino Alves

A ação da piperina na indução da apoptose de células tumorais, por meio do ensaio de citometria de fluxo: Uma revisão sistemática

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado à Faculdade de Engenharia, Campus de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", como parte das exigências para obtenção do título de Bacharelado em Ciências Biológicas.

Comissão Examinadora

Profª. Drª. Karine Assis Costa
UNESP Câmpus de Ilha Solteira
Orientadora

Profª. Drª. Flávia Cristina Rodrigues Lisoni
UNESP Câmpus de São José do Rio Preto
Co-orientadora

Profª. Drª. Maria Fernanda Alves Martin
UNESP Câmpus de Ilha Solteira

Profª. Drª. Liliane Santos de Camargos
UNESP Câmpus de Ilha Solteira

Ilha Solteira
20 de Agosto de 2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Ilha Solteira

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

Alves, Elivelton Firmino.
A474a A ação da piperina na indução da apoptose de células tumorais, por meio do ensaio de citometria de fluxo: uma revisão sistemática / Elivelton Firmino Alves. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2023
45 f. : il.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, 2023

Orientadora: Karine Assis Costa
Coorientadora: Flávia Cristina Rodrigues Lisoni
Inclui bibliografia

1. Apoptose celular. 2. Câncer. 3. Citometria de fluxo. 4. Piperina. 5. Revisão sistemática.

Raiane da Silva Santos
Supervisora Técnica de Seção
Seção Técnica de Referência, Atendimento ao usuário e Documentação
Diretoria Técnica de Bibliotecas e Documentação
CRB/8 - 9999

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Ilha Solteira

ATA DE DEFESA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

"A AÇÃO DA PIPERINA NA INDUÇÃO DA APOPTOSE DE CÉLULAS TUMORAIS, POR MEIO DO ENSAIO DE CITOMETRIA DE FLUXO: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA"

ELIVELTON FIRMINO ALVES

REGULAMENTO SOBRE A AVALIAÇÃO:

Artigo 25º - § 2º A apresentação pública do trabalho de TCC deverá ser de no mínimo 20 (vinte) minutos e máxima de 40 (quarenta) minutos. Após um intervalo de 5 (cinco) minutos, haverá a arguição do Trabalho pelos examinadores. O tempo de arguição, será de até 15 (quinze) minutos para cada examinador, e até 15 (quinze) minutos o tempo para a resposta do(a) aluno(a) a cada examinador ou no caso de se optar pelo diálogo o tempo conjunto entre examinador e acadêmico(a) será de no máximo 30 (trinta) minutos.

Artigo 24º - No julgamento do TCC, a banca examinadora deverá avaliar a apresentação oral, escrita e a defesa do trabalho durante a arguição. O conceito final será APROVADO(A) ou REPROVADO(A).

COMISSÃO EXAMINADORA

gov.br Documento assinado digitalmente
FLAVIA CRISTINA RODRIGUES LISONI
Data: 12/09/2023 12:02:24-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

1ª EXAMINADORA (Co-orientadora-Presidente)
Nome: Profa. Flávia Cristina Rodrigues Lisoni _____

2ª EXAMINADORA
Nome: Profa. Dra. Maria Fernanda Alves Martin _____

3ª EXAMINADORA
Nome: Profa. Dra. Liliane Santos de Camargos _____

CONCEITO
(X) Aprovado(a)
( ) Reprovado(a)

Dedico esta conquista a minha mãe e irmãos pelo incentivo e paciência. Vocês foram fundamentais nesta jornada. E a todas as pessoas que já foram acometidas com o câncer, que eu possa estar contribuindo o mínimo que seja para que em um futuro próximo essa doença não seja tão danosa.

AGRADECIMENTOS

Ao longo dessa jornada tive o apoio de várias pessoas presentes ao meu lado, que me ajudaram e motivaram a conquistar esse sonho. Finalizo essa etapa com grande satisfação e gratidão pelo apoio de todos. NUNCA DESISTAM, TENHAM PERSEVERANÇA E DETERMINAÇÃO SEMPRE!

Primeiramente agradeço à minha Co-orientadora Profª Drª Flávia Rodrigues Lisoni por toda a paciência e conhecimento que foi compartilhado. Por todos os conselhos e dedicação para com o trabalho. E agradeço a oportunidade de ter trabalhado com uma grande profissional que é também uma inspiração a todos nós!

Agradeço à minha orientadora Profª Drª Karine Assis Costa por gentilmente ter se disponibilizado a fazer a minha orientação em tão pouco tempo. Muito obrigado!

Agradeço a minha mãe Marina, por todos os ensinamentos e pelo apoio que sempre me deu. Obrigado por tudo!

Agradeço ao meu irmão Edevair, por todos os conselhos, apoio motivacional e financeiro dados durante essa jornada. Você é um grande exemplo pra mim!

Agradeço aos meus amigos Renan Barbosa, Renan Yudi, Raí e Leilane pelos bons momentos que passamos juntos. Vocês são incríveis!

Agradeço a UNESP pela oportunidade de fazer parte da história dessa grande e bela instituição.

Desde já, agradeço a banca examinadora que disponibilizaram tempo para contribuir com a minha formação.

"Biologia é o estudo de coisas complicadas que têm a aparência de terem sido projetadas com um propósito." Richard Dawkins.

RESUMO

O câncer é um grave problema de saúde em todo o mundo, com milhões de casos e óbitos registrados a cada ano. No Brasil, entre março e dezembro de 2020, ocorreram mais de 181.000 mortes por câncer, com indícios de que a COVID-19 teve um impacto significativo nos pacientes. Estima-se que a mortalidade por câncer nas Américas aumente para 2,1 milhões até 2030. O diagnóstico rápido e o tratamento efetivo são cruciais no combate a essa doença. No entanto, os tratamentos convencionais muitas vezes falham em deter o avanço e a proliferação do câncer, além de causarem impactos negativos na saúde e no bem-estar do paciente. Diante desse desafio, pesquisadores têm explorado alternativas baseadas em fármacos naturais com propriedades antitumorais, buscando melhorar a eficácia dos tratamentos e combater o desenvolvimento de tumores. Um desses fármacos em estudo é a piperina, um alcalóide encontrado principalmente em frutos da planta pimenta-do-reino (*Piper nigrum*). A piperina demonstrou efeitos citotóxicos, anti-inflamatórios, imunomoduladores, antioxidantes e, principalmente, a capacidade de induzir a apoptose ou morte celular programada de células cancerígenas, de forma específica e seletiva. A citometria de fluxo, uma técnica precisa e útil, tem auxiliado pesquisadores na análise citotóxica e oncológica, permitindo escanear as células e obter informações relevantes sobre sua saúde. Nesse contexto, uma revisão sistemática da literatura foi realizada para analisar estudos publicados entre 2017 e 2022 sobre a ação da piperina na indução da apoptose de células cancerígenas por meio da citometria de fluxo. A revisão seguiu a metodologia PRISMA e utilizou o PubMed como base de dados para seleção dos artigos. Foram encontrados 53 artigos, dos quais 26 estudos experimentais foram considerados após a aplicação de critérios de seleção. Esses estudos forneceram dados sobre substâncias citotóxicas, tipos de câncer tratados e metodologias utilizadas. O ano de 2020 se destacou com o maior número de publicações, provavelmente devido ao impacto da pandemia da COVID-19 nas pesquisas clínicas e laboratoriais. Os resultados revelaram que a curcumina foi o fármaco mais utilizado em combinação com a piperina para aumentar a intensidade da ação citotóxica nos tratamentos. No entanto, a aplicação individual da piperina também mostrou eficácia. Além disso, alguns estudos exploraram o uso de ferramentas nanotecnológicas para intensificar os efeitos citotóxicos e antitumorais da piperina nas células cancerígenas, representando uma nova perspectiva de tratamento. Concluiu-se que, nos últimos seis anos, houve avanços significativos nos estudos sobre a ação da piperina na apoptose de células tumorais por meio da citometria de fluxo. No entanto, mais pesquisas são necessárias para aprimorar o conhecimento sobre as propriedades antitumorais e apoptóticas da piperina, assim como seu uso combinado com outros fármacos naturais e com a aplicação da nanotecnologia.

Palavras-chave: Apoptose celular, Câncer, Citometria de fluxo, Piperina, Revisão sistemática.

Abstract

Cancer is a serious health problem worldwide, with millions of cases and deaths recorded each year. In Brazil, between March and December 2020, there were more than 181,000 deaths from cancer, with indications that COVID-19 had a significant impact on patients. It is estimated that cancer mortality in the Americas will increase to 2.1 million by 2030. Rapid diagnosis and effective treatment are crucial in combating this disease. However, conventional treatments often fail to stop the advancement and anticipation of cancer, in addition to causing negative effects on the patient's health and well-being. Faced with this challenge, researchers have sought alternatives in natural drugs with antitumor properties, seeking to improve the effectiveness of treatments and combat the development of tumors. One of these drugs under study is piperine, an alkaloid found mainly in the fruits of the black pepper plant (*Piper nigrum*). Piperine has demonstrated cytotoxic, anti-inflammatory, immunomodulatory, antioxidant effects and, mainly, the ability to induce apoptosis or programmed cell death of cancer cells, in a specific and selective way. Flow cytometry, a precise and useful technique, has an auxiliary researcher in cytotoxic and oncological analysis, allowing the scanning of cells and obtaining relevant information about their health. In this context, a systematic literature review was carried out to analyze studies published between 2017 and 2022 on the action of piperine in inducing apoptosis of cancer cells through flow cytometry. The review followed the PRISMA methodology and used PubMed as the database for selecting articles. 53 articles were found, of which 26 experimental studies were considered after applying selection criteria. These studies provided data on cytotoxic substances, types of cancer treated and methodologies used. The year 2020 stood out with the highest number of publications, probably due to the impact of the COVID-19 pandemic on clinical and laboratory research. The results revealed that curcumin was the most used drug in combination with piperine to increase the intensity of the cytotoxic action in the treatments. However, the individual application of piperine also showed efficacy. In addition, some studies have explored the use of nanotechnological tools to enhance the cytotoxic and antitumor effects of piperine on cancer cells, representing a new treatment perspective. It was concluded that, in the last six years, there have been significant advances in studies on the action of piperine on tumor cell apoptosis by means of flow cytometry. However, more research is needed to improve knowledge about the antitumor and apoptotic properties of piperine, as well as its combined use with other natural drugs and the application of nanotechnology.

Keywords: Cancer, Cellular apoptosis, Flow cytometry, Piperine, Systematic review.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO..... 12
1.1 A Revisão Sistemática como ferramenta para ampliar a pesquisa sobre as propriedades terapêuticas e antitumorais da piperina..... 12
1.2 O impacto do câncer no Brasil e no mundo e a piperina como alternativa de tratamento..... 14
1.3 Mecanismos anti-tumorigênicos da piperina..... 16
2. Objetivo..... 17
3. Metodologia..... 18
3.1 O uso da piperina junto a outros fármacos nos testes de citotoxicidade..... 20
3.2 Abordando a conclusão definitiva de cada um dos artigos selecionados..... 22
3.3 Análise da qualidade e do viés de publicação dos artigos selecionados..... 24
4. Resultados..... 26
5. Discussão..... 33
5.1 Piperina administrada junto a outros fármacos e a conclusão geral dos estudos selecionados..... 35
5.2 Análise da confiabilidade e da qualidade metodológica dos estudos selecionados pelo ToxRTool..... 36
5.3 A nanotecnologia trazendo uma nova perspectiva para os tratamentos..... 37
6. Conclusão..... 38
Referências..... 38

1. INTRODUÇÃO

1.1 A Revisão Sistemática como ferramenta para ampliar a pesquisa sobre as propriedades terapêuticas e antitumorais da piperina.

Uma revisão sistemática da literatura é uma forma de pesquisa que envolve a análise abrangente e detalhada de um conjunto de estudos relevantes sobre um determinado tema ou questão de pesquisa. O objetivo principal de uma revisão sistemática é sintetizar, de forma imparcial e rigorosa, todas as evidências disponíveis na literatura científica para responder a uma pergunta específica de pesquisa. Geralmente a realização de uma revisão sistemática requer uma pergunta clara, a definição de uma estratégia de busca, o estabelecimento de critérios de inclusão e exclusão dos artigos e, acima de tudo, uma análise criteriosa da qualidade da literatura selecionada. O processo de desenvolvimento inclui caracterizar cada estudo selecionado, avaliar a qualidade dos mesmos, identificar conceitos importantes, comparar as análises estatísticas apresentadas e concluir sobre o que a literatura informa em relação a determinada intervenção, apontando ainda problemas/questões que necessitam de novos estudos (Tranfield, D. e Denyer, D. et al., 2003; RF, S. e Mancini MC, E. et al, 2007). Portanto, o presente estudo se trata de uma revisão sistemática da literatura, onde foram investigados e analisados vários trabalhos acadêmicos. Os quais, abordam o estudo da ação da piperina na indução da apoptose ou morte de células cancerígenas, pela análise do ensaio de citometria de fluxo, no período de 2017 a 2022.

De acordo com Dalby (2002), desde a antiguidade, a pimenta preta ou pimenta do reino, sempre foi a especiaria mais importante do mundo. Os povos orientais mais antigos da Índia e China sempre a usavam não somente como um tempero mas também como agente medicinal, e por conta de suas propriedades curativas, não demorou para que seu consumo se estendesse para grande parte do mundo, como a Europa por exemplo, sendo utilizada não somente como condimento mas também como remédio, mesmo que não compreendessem de fato a origem de tais propriedades medicinais.

Séculos depois essas características chamaram a atenção de pesquisadores das mais diversas áreas, em busca de desvendar a origem desses atributos

terapêuticos. A literatura relata que o primeiro trabalho descrevendo o isolamento de compostos a partir da pimenta-do-reino foi descrito em 1819 pelo químico e físico dinamarquês Hans Christian Oersted (1777-1851), que obteve como produto do isolamento uma substância cristalina amarela, e sua estrutura foi posteriormente identificada como piperina. Um alcalóide responsável pela pungência (ardor) da pimenta e por suas características medicinais. Com o passar dos anos e o avanço da química orgânica, os estudos sobre a piperina foram se intensificando e tornando-se mais especializados, resultando em uma gigantesca enciclopédia contendo várias informações disponíveis sobre as atividades biológicas e farmacológicas da piperina, que já foram demonstradas em animais de laboratório e até mesmo em humanos, como por exemplo, atividades antimicrobiana, anti-inflamatória, antitumoral, antiparasitária, e propriedades antioxidantes, tanto em condições in vivo quanto in vitro (Aparecida Carvalho França et al., 2021).

Atualmente uma das característica mais estudadas pelos pesquisadores na literatura é a capacidade antitumoral da piperina, principalmente pelo seu potencial de induzir a morte celular programada de várias linhagens de células tumorais. Assim como informações sobre os mecanismos bioquímicos e metabólicos que são desencadeados pela ação antitumoral deste alcalóide, também são um grande alvo da busca de estudiosos nas bases de dados disponíveis (Anshuly Tiwari et al., 2020; Mitra S. et al., 2022). Hoje o acesso a grande parte da literatura sobre a piperina e suas propriedades se tornou mais acessível com o surgimento de bibliotecas online, onde várias organizações acadêmicas disponibilizam bancos de dados contendo um grande número de informações, que estão presentes em artigos produzidos por pesquisadores de diversas áreas. Fator esse que, acelera o processo de pesquisa acadêmica e desenvolve cada vez mais o conhecimento científico a respeito da piperina e sua utilidade nos tratamentos de tumores (Masic; Milinovic, 2012; Masic; Begic, 2016).

A literatura atual fornece dados positivos sobre a utilização da citometria de fluxo como ferramenta de diagnóstico em diferentes métodos de tratamento de tumores. Isso se deve pela capacidade dessa técnica de avaliar células nas fases G0/G1, S e G2/M e aquelas com poliploidia, o que tem significado prognóstico, pois fornece informações sobre a ploidia do câncer e a porcentagem de células na fase S, sendo esta última uma marca registrada do câncer. Deste modo a citometria de fluxo é uma ferramenta valiosa que pode fornecer informações substanciais na

análise tumoral e, consequentemente, maximizar o tratamento do câncer e agilizar a sobrevivência dos pacientes. Portanto, essa técnica também se mostra de grande ajuda nas pesquisas sobre o tratamento de células tumorais pela utilização da piperina, pois o conceito de sua aplicação nesse tipo de análise é semelhante à realizada em outros métodos de tratamento (Andreou et al., 2019; D'amato Figueiredo et al., 2022).

1.2 O impacto do câncer no Brasil e no mundo e a piperina como alternativa de tratamento

O câncer em geral é definido como um grupo de doenças malignas que possuem como característica em comum a divisão acelerada e desordenada de células que podem invadir tecidos adjacentes ou órgãos distantes, formando metástases. Multiplicando-se rapidamente, estas células tendem a ser muito agressivas e incontroláveis, acarretando na danificação de tecidos pela formação de tumores ou neoplasias, que podem se espalhar e contaminar outras regiões do corpo, causando desequilíbrios metabólicos e desencadeando uma série de ataques intensos do sistema imunológico aos tecidos infectados, trazendo maiores danos ao corpo do indivíduo (Instituto Nacional de Câncer, 2022; OPAS/OMS, Organização Pan-Americana da Saúde, Organização Mundial de Saúde, 2022). Segundo a organização mundial de saúde, o câncer é uma das principais causas de morte em todo o mundo, estima-se que apenas em 2018 houveram 9,33 milhões de casos, com aproximadamente 9,6 milhões de óbitos. Entre março e dezembro de 2020 ocorreram no Brasil 181.377 mortes por câncer, havendo fortes indícios que a covid-19 teve um importante impacto entre os pacientes portadores. Segundo o INCA (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER) só no ano de 2021, houveram 231.694 óbitos por câncer, entres eles 110.910 mulheres e 120.784 homens. Posteriormente, estudos atuais confirmam que a pandemia causou uma queda significativa no número de mamografias, redução de diagnósticos de cânceres em estágios iniciais, aumento dos casos de câncer sintomáticos e aumento dos custos com quimioterapia para doenças avançadas (Demarchi PKH. et al, 2022; Santos, L. A. de O. et al, 2023). Também é previsto que a mortalidade por câncer nas Américas aumente para 2,1 milhões até 2030 (Jardim, B. C. et al., 2022; OPAS/OMS, 2022).

No Brasil os tipos de câncer mais frequentes entre a população são o de mama e próstata (66 mil casos cada), cólon e reto (41 mil), pulmão (30 mil) e

estômago (21 mil). Com novos casos surgindo a cada ano (Oncoguia, I. Estimativas de Câncer no Brasil, 2022; World Health Organization. Cancer, 2022).

Os tratamentos mais comuns para combater o câncer estão entre cirurgias, quimioterapia, radioterapia e até mesmo transplante de medula. Porém, alguns desses métodos exigem muito do paciente por serem muito invasivos e debilitantes para o organismo do mesmo, podendo acarretar em lesões internas e estéticas irrecuperáveis. Também é válido salientar que, nem sempre conseguem combater a proliferação das metástases com sucesso, e quando o obtém, muitas vezes o efeito de melhora não é duradouro, necessitando que o paciente recorra novamente aos tratamentos. Isso normalmente ocorre pela característica e natureza altamente proliferativa que as células cancerígenas possuem, dificultando a ação dos medicamentos e tratamentos no tempo necessário (Do Nascimento, et al. 2021; INCA, 2022 ; Vasconcelos, M. B. de e Vilhena, G. P et al., 2022).

Portanto, muitos pesquisadores têm buscado novos fármacos naturais com propriedades anti-tumorais para auxiliar na eficiência dos tratamentos e da quimioterapia. A piperina é um desses fármacos que vem sendo estudada como uma alternativa válida para auxiliar no tratamento de várias linhagens de câncer, pois exerce efeitos citotóxicos, anti-inflamatórios, imunomoduladores, anti-oxidantes e principalmente por induzir a morte celular ou apoptose em células cancerígenas (Chen D, Ma Y. and Guo Z. et al., 2020; Rad JG. and Hoskin DW. et al., 2020; Quijia CR. and Chorilli M et al., 2022). A piperina é um composto orgânico de característica alcalóide, encontrada principalmente nos frutos e raízes das plantas *Piper nigrum* (pimenta-do-reino) e *Piper longum* (pimenta longa), ambas oriundas da família *Piperaceae* e do gênero *Piper,* são nativas do sudeste asiático, sendo encontradas principalmente na Índia. Sua estrutura química é dividida em três partes, um anel heterocíclico aromático, um anel de piperidina e uma cadeia de hidrocarboneto alifático, que possui a capacidade de interromper as fases do desenvolvimento celular, assim como a reprodução e também interferir nas vias metabólicas das células tumorais (Quijia CR. and Chorilli M et al., 2022).

Como método para analisar o resultado do tratamento dessas células pela piperina, a citometria de fluxo vem se mostrando uma ótima ferramenta diagnóstica, pois, além de fornecer resultados detalhados e precisos, também é capaz de quantificar e examinar simultaneamente todos os parâmetros e informações desejadas da amostra. A citometria de fluxo funciona basicamente, com a passagem

das células tratadas com fluoróforos sendo dispersas em um funil que direciona o meio líquido para a coluna de um citômetro de fluxo multiparamétrico, sendo uma a uma expostas a um ou mais lasers que quando atingem os fluoróforos nas células geram sinais luminosos que são captados e convertidos em sinais elétricos. Os quais são transformados em dados eletrônicos e armazenados por um software. Resultando em informações programadas e armazenadas previamente para serem analisadas. Essa técnica promove um tipo de escaneamento da célula, capaz de evidenciar no processo várias informações relevantes, como o estado da estrutura celular, a variação da composição metabólica, produção de proteínas, expressão de genes, a situação das organelas, e principalmente, se está ou não havendo o processo de apoptose ou morte celular (Braga, K. M. da S. et al., 2016; Furlanetto, G. et al., 2021).

1.3 Mecanismos anti-tumorigênicos da piperina

A piperina é capaz de exercer uma grande variedade de funções antitumorais, favorecendo assim o combate a metástases e neoplasias. Muita dessas funções tem relação com a natureza química e estrutural desta substância alcalóide, que se trata de um anel de pirimidina e farmacóforo heterocíclico com uma alta atividade antitumoral, capaz de inibir a telomerase, metaloproteases, topoisomerases e proteassomas. Como também atuam em vários receptores de células cancerígenas, prejudicando dessa forma o desenvolvimento e a manutenção dessas células (Quijia CR. and Chorilli M et al., 2022).

Outro mecanismo também muito importante da piperina é a capacidade de regular múltiplos sinais intracelulares de vias de sinalização, incluindo fatores de transcrição que agem contra o câncer, propiciando em sua morte celular. Por exemplo, o fator ativador da proteína-2, STAT3, fator nuclear kappa-potenciador de cadeia leve e ativadores de linfócitos B (Zadorozhna M., Tataranni T. et al., 2019; Quijia CR. and Chorilli M et al., 2022). Também existem estudos que mostram a capacidade da piperina de ativar a caspase-3 e 9 que, por sua vez, cliva a PARP, assim como outros reguladores positivos da apoptose (Zadorozhna M., Tataranni T. et al., 2019). A piperina também já se mostrou apta a inibir o crescimento de células de câncer de pulmão (B16F10), devido a inibição da expressão de isoenzimas Citocromo p450 (Stohr et al., 2001).

A piperina também possui propriedades antioxidantes, pois é capaz de exercer proteção contra radicais livres em células saudáveis. Como foi observado em um estudo com células *in vitro* e *in vivo* de camundongos intoxicados. A piperina exerceu proteção contra a hepatotoxicidade do hidroperóxido de terc-butila e do tetracloreto de carbono, por haver diminuído a peroxidação lipídica, impedindo a degradação de receptores GHS (Ravindra Babu, M. et al., 2020).

A capacidade imunomoduladora também está relacionada à ação antitumoral da piperina. De acordo com o estudo de Sunila & Kuttan (2004), a administração da piperina inibiu significativamente o crescimento de tumor sólido induzido por células de linfoma de Dalton e carcinoma de Ehrlich, e esta atividade antitumoral pode estar relacionada com sua propriedade imunomoduladora, que envolve a ativação celular e resposta imune humoral.

O potencial antiinflamatório da piperina também é um fator importante a ser mencionado. Como já foi observado em estudos onde, uma atividade analgésica significativa foi produzida pela piperina em baixas doses de 5 e 10 mg/kg (Ravindra Babu, M. et al., 2020). E a administração de piperina inibiu o choque induzido por endotoxinas como lipopolissacarídeos (LPS). Como também impediu o acúmulo de leucócitos e a produção de TNF-α (Fator de necrose tumoral alfa), intensificando os efeitos antiinflamatórios (Pereira Bezerra, D. et al., 2005; Ravindra Babu, M. et al., 2020).

Esses e outros mecanismos característicos da piperina a tornam um fármaco natural muito interessante a ser estudado, principalmente no combate ao desenvolvimento e resistência de várias linhagens cancerígenas.

2. Objetivo

No presente estudo de revisão sistemática da literatura, buscamos responder às seguintes questões: Quantos artigos publicados entre os anos de 2017 e 2022 abordam o estudo da ação da piperina na apoptose ou morte de células cancerígenas, através do ensaio de citometria de fluxo? Como esses estudos foram desenvolvidos nesse período de tempo? E quais as novidades e perspectivas para esse tipo de tratamento?

3. Metodologia

Para a realização deste trabalho, foi necessário fazer a busca e o inventariamento de vários trabalhos acadêmicos publicados entre os anos de 2017 e 2022, que abordassem o estudo da ação da piperina na indução da apoptose ou morte de células cancerígenas, cujo os resultados dos tratamentos foram analisados pelo ensaio de citometria de fluxo. Então para isso, fizemos o uso do PubMed (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/), uma plataforma de livre busca e acesso da National Library of Medicine (NLM) que é reconhecida como um centro nacional de informações sobre biotecnologia que promove a ciência e a saúde ao fornecer acesso a informações biomédicas e genômicas, cujo a sede é localizada nos Estados Unidos.

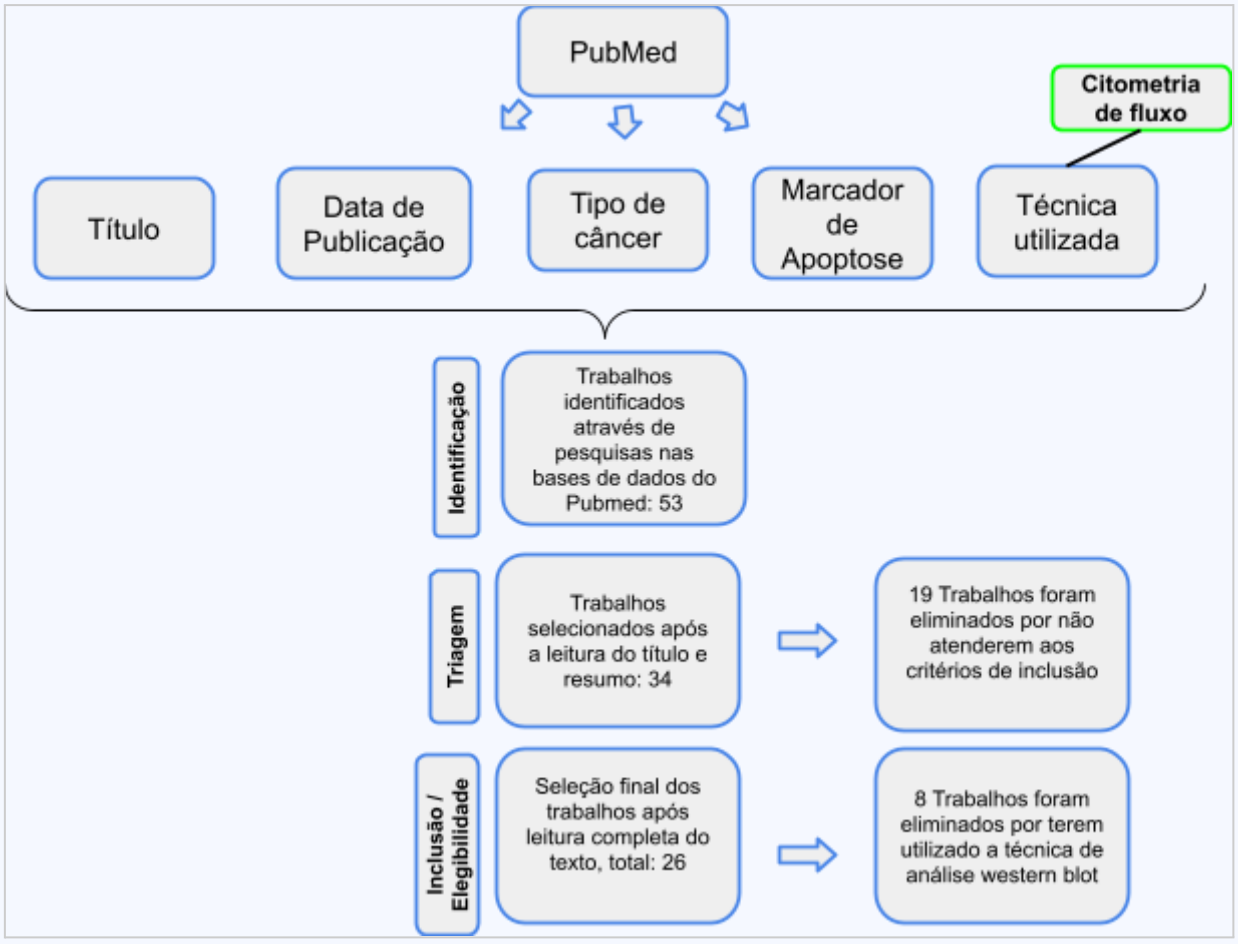
Para o armazenamento de uma grande quantidade de trabalhos e artigos de forma rápida, prática e organizada, foi feito o uso da ferramenta PostgreSQL (https://www.postgresql.org/). O PostgreSQL é uma ferramenta que atua como sistema de gerenciamento de bancos de dados relacionados. Seu objetivo é permitir a implementação da linguagem SQL em estruturas de bancos de dados relacionados entre si. Assim, possibilitando e facilitando a organização e o enquadramento dos artigos. Também foram utilizadas as ferramentas Google Excel e Docs com o objetivo de armazenar e organizar os dados encontrados. E a partir deles, construir os gráficos e tabelas que evidenciam de forma precisa e sintetizada as informações que se encontram no presente trabalho. Toda estrutura da pesquisa foi realizada conforme as recomendações metodológicas do PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses). O PRISMA é um conjunto mínimo de itens baseado em evidências para relatórios em revisões sistemáticas e meta-análises, é reconhecido e muito utilizado no meio acadêmico, em pesquisas desse tipo (Page; et al. 2022). Através do PRISMA foi possível utilizar algumas de suas ferramentas que auxiliam e orientam sobre a melhor maneira de se construir e conduzir uma pesquisa de revisão sistemática da literatura, passo a passo. Essas ferramentas são o PRISMA Flow Diagram e PRISMA Checklist (Cristiane, M. et al, 2019; PRISMA, 2020; Page; et al. 2022). As buscas começaram em 26 de fevereiro de 2022 na plataforma do Pubmed, através inserção das palavras chaves "câncer, piperina, apoptose, citometria de fluxo”, onde foram reunidos inicialmente um total de 53 artigos, que depois de passarem pela filtragem

por meio da avaliação dos critérios de inclusão escolhidos, foram selecionados 26 artigos.

Os critérios estabelecidos para selecionar os trabalhos foram escolhidos visando uma filtragem mais precisa e específica dos documentos. As informações existentes nos trabalhos foram cruciais para a realização da seleção. As principais informações estabelecidas como critério de seleção foram: Título, Data de publicação, Tipo de câncer, Marcador de apoptose e a Técnica de análise utilizada.

O título dos trabalhos que passaram nos critérios de seleção logicamente deveriam expressar necessariamente que o artigo em questão aborda o estudo sobre ação da piperina na indução da apoptose ou morte de células cancerígenas. Os artigos selecionados também devem ter sido publicados entre os anos de 2017 e 2022. Eles também deveriam deixar claro qual o tipo de câncer das células envolvidas no estudo. Outra informação que deveria constar nos artigos é o uso de marcadores celulares de apoptose que foram utilizados nos tratamentos das células, como por exemplo a Anexina 5 que é uma proteína capaz de detectar células apoptóticas por sua capacidade de se ligar à fosfatidilserina, um marcador de apoptose quando está na camada externa da membrana plasmática (Rodrigues, P.; Prof, O. et al., 2005; Silva, L. et al., 2022). Nos artigos selecionados também deveria constar o uso da técnica de citometria de fluxo como ferramenta de análise dos resultados do tratamento das células cancerígenas pela piperina, evidenciando os indícios de apoptose ou morte celular, sendo esta uma das informações mais relevantes para a escolha dos trabalhos.

Figura 1. Representação esquemática dos métodos de identificação, triagem e inclusão/elegibilidade dos artigos utilizados na realização do trabalho de revisão. Adaptadas de acordo com o PRISMA Flow Diagram.



Fonte: Autor, 2023

É importante relatar que se trata de uma pesquisa de revisão sistemática que dá enfoque a ação da piperina na apoptose ou morte de células cancerígenas. Portanto, também foi considerada a inserção de trabalhos cujo a piperina é usada em conjunto com outros fármacos naturais com propriedades anticancerígenas semelhantes à piperina. Visando assim, intensificar a ação da apoptose celular nos resultados dos tratamentos.

3.1 O uso da piperina junto a outros fármacos nos testes de citotoxicidade

Foi realizado o levantamento das informações em cada um dos 26 artigos selecionados, evidenciando o uso de 11 fármacos naturais que assim como a piperina, também possuem propriedades anti-tumorigênicas e 2 quimioterápicos. Esses medicamentos foram aplicados juntamente à piperina nos estudos de citotoxicidade, com o propósito de potencializar o efeito citotóxico do tratamento nas células cancerígenas. Entre os fármacos utilizados temos, a Mitomicina C, Capsaicina, Hesperidina, Veneno de abelha, Curcumina, Quercetina, Ácido Glicirrízico, Ácido gambogico, Paclitaxel, Piperlonguminina e o Xantotoxol, todos de origem natural. Enquanto os quimioterápicos usados, como a Temozolomida e o Celecoxibe têm origem sintética. Todo agrupamento e análise das informações foi feito com o auxílio do Google Excel e Google Docs. Possibilitando a construção de gráficos e tabelas que evidenciam a mensagem desses dados de forma clara e objetiva (**Tabela 1**). É válido ressaltar que a proporção de artigos que utilizaram a piperina de maneira individual nos estudos, também foi exibida.

Tabela 1. Agrupamento dos fármacos utilizados nos estudos selecionados.

Autor	Ano	Fármaco(os) utilizados nos estudos
Siddiqui S. et al.	2017	Piperina
Gunasekaran V. et al	2017	Piperina
Fan L. et al.	2017	Piperina
Han, S.-Z. et al.	2017	Piperina + Mitomicina C
Zeng Y. et al.	2018	Piperina
Li H. et al.	2018	Piperina + Capsaicina
Si, L. et al.	2018	Piperina
Khamis, A. A. A. et al.	2018	Piperina + Hesperidina + Veneno de abelha
Di Meo, F. et al.	2019	Piperina + Curcumina
Xie, Z. et al.	2019	Piperina + Paclitaxel
George K. et al	2019	Piperina
Chen, D. et al.	2020	Piperina + Piperlongumina
Rad JG and Hoskin DW.	2020	Piperina
Bolat, Z. B. et al.	2020	Piperina + Curcumina

Yapasert, R. et al.	2020	Piperina + Xantotoxol
Li, N. et al.	2020	Piperina + Curcumina
Qi, Y. et al.	2020	Piperina
Jeong, S. et al	2020	Piperina + Temozolomida
Shaheer K. et al	2020	Piperina
Chen, H. et al.	2020	Piperina
Quarti, J. et al.	2021	Piperina
Srivastava, S. et al.	2021	Piperina + Celecoxib
Chaudhari, V. S. et al.	2021	Piperina + Quercetina
Li, S. et al.	2021	Piperina + Ácido Glicirrízico
Elimam DM, et al.	2022	Piperina
Rittibet Yapasert, et al.	2022	Piperina + Ácido gambogi

Fonte: Autor, 2023.

Dessa forma foi possível mostrar a proporção em que cada fármaco e medicamento foram utilizados juntamente da piperina nos estudos selecionados. E também, mostrar as tendências dos tratamentos que vêm sendo empregados com o uso da piperina e outros fármacos naturais, assim como, evidenciar quais deles foram mais utilizados nos últimos anos.

3.2 Abordando a conclusão definitiva de cada um dos artigos selecionados

Conjuntamente, foi realizado o agrupamento das conclusões definitivas dos 26 estudos selecionados (**Tabela 2**). Com o propósito de fornecer uma visão geral e clara, dos resultados obtidos nos estudos incluídos na revisão. A categorização da conclusão definitiva foi aplicada em diferentes grupos como:

Bem sucedido - Quando o trabalho apresenta uma conclusão onde o objetivo final foi totalmente atingido, demonstrando sucesso obtido nas análises. Ou seja, o tratamento obteve sucesso na indução da apoptose/morte celular e diminui o avanço das células cancerígenas.

Regular - Quando o trabalho apresenta uma conclusão onde o objetivo final do estudo foi parcialmente atingido. Ou seja, o tratamento mostrou um certo grau de citotoxicidade nas células cancerígenas, porém, não atingiu o nível esperado. Ou

quando o estudo reconhece que ainda não existem dados suficientes para confirmar e validar o resultado obtido, sendo necessário mais pesquisas.

Inconclusivo - Quando o trabalho mostrou uma conclusão onde o objetivo final da pesquisa não foi atingido. Ou seja, se o tratamento não apresentou resultados na indução da apoptose celular ou na diminuição do desenvolvimento das células cancerígenas.

Todo agrupamento das informações foi feito com o auxílio do Google Excel e Google Docs. O'Que possibilitou a construção de gráficos e tabelas que evidenciam a tendência geral dos resultados das conclusões, de forma clara e objetiva, **Tabela 2 e Figura 5**. Nenhum dos artigos demonstrou um desfecho com informações ou resultados inconclusivos.

Tabela 2. Agrupamento dos desfechos conclusivos de cada artigo selecionado.

Autor	Ano	Desfecho da conclusão do estudo
Siddiqui S. et al.	2017	Bem sucedido
Gunasekaran V. et al	2017	Bem sucedido
Fan L. et al.	2017	Bem sucedido
Han, S.-Z. et al.	2017	Bem sucedido
Zeng Y. et al.	2018	Bem sucedido
Li H. et al.	2018	Regular (mais pesquisas são necessárias)
Si, L. et al.	2018	Bem sucedido
Khamis, A. A. A. et al.	2018	Regular (mais pesquisas são necessárias)
Di Meo, F. et al.	2019	Bem sucedido
Xie, Z. et al.	2019	Bem sucedido
George K. et al	2019	Bem sucedido
Chen, D. et al.	2020	Bem sucedido
Rad JG and Hoskin DW.	2020	Bem sucedido
Bolat, Z. B. et al.	2020	Bem sucedido
Yapasert, R. et al.	2020	Bem sucedido
Li, N. et al.	2020	Bem sucedido
Qi, Y. et al.	2020	Regular (mais pesquisas são necessárias)
Jeong, S. et al	2020	Regular (mais pesquisas são necessárias)
Shaheer K. et al	2020	Regular (mais pesquisas são necessárias)

Chen, H. et al.	2020	Bem sucedido
Quarti, J. et al.	2021	Bem sucedido
Srivastava, S. et al.	2021	Bem sucedido
Chaudhari, V. S. et al.	2021	Bem sucedido
Li, S. et al.	2021	Regular (mais pesquisas são necessárias)
Elimam DM, et al.	2022	Bem sucedido
Rittibet Yapasert, et al.	2022	Regular (mais pesquisas são necessárias)

Fonte: Autor, 2023.

3.3 Análise da qualidade e do viés de publicação dos artigos selecionados

Como orientado pelo PRISMA, o presente trabalho de revisão sistemática da literatura, realizou a análise da qualidade, confiabilidade e de possíveis vieses de publicação nos 26 trabalhos selecionados (Page, M. J. et al., 2022). Esta análise foi feita através da ferramenta “ToxRTool” (Ferramenta de avaliação de confiabilidade de dados toxicológicos), essa ferramenta foi desenvolvida no contexto de um projeto financiado pela Comissão Européia, para avaliação da qualidade e confiabilidade de pesquisas com dados toxicológicos. Assim, fornecendo critérios abrangentes e orientações detalhadas para avaliação da qualidade inerente desses dados (Schneider, K. et al., 2009). O “ToxRTool” foi desenvolvido no programa Microsoft Excel e consiste de duas partes diferentes, uma para dados *in vivo* e outra para dados *in vitro*. A ferramenta compreende uma lista de 21 critérios para estudos *in vivo* e 18 critérios para estudos *in vitro*. A cada critério pode ser atribuído ‘1’ (um ponto) para cada pergunta nele respondida, ou seja ‘critério atendido’ ou ‘0’ (sem ponto) para cada pergunta nele não respondida, ou seja ‘critério não atendido’ (European Union Reference Laboratory for alternatives to animal testing - EURL ECVAM, 2009). Os critérios para avaliação de estudos *in vivo* ou *in vitro* foram estabelecidos de forma congruente, visando a maior abrangência possível. E são agrupados em cinco grupos de critérios em ambos os casos:

I. Identificação da substância teste
II. Caracterização do sistema de teste
III. Descrição do formato do estudo

IV. Documentação dos resultados do estudo

V. Plausibilidade do formato do estudo e dos resultados

Quadro 1. Categorização e definição da confiabilidade pela ferramenta ToxRTool.

	in vivo	***in vitro***	**Confiabilidade**	**Qualidade**
1	18-21	15-18	Confiável sem restrições	Alta
2	13-17	11-14	Confiável com restrições	Mediana
3	<13 ou nem todos os critérios vermelhos foram atendidos	<11 ou nem todos os critérios vermelhos foram atendidos	Não confiável	Baixa

Fonte: ToxRTool, 2009.

O total de pontos atribuídos a um determinado estudo pelos critérios, leva a uma proposta de categoria de confiabilidade. As categorias são divididas em três tipos e vão variar conforme o desempenho do resultado final do estudo. São elas, "confiável sem restrições" para artigos que atingiram uma pontuação acima da média e portanto são considerados estudos úteis. Também temos a categoria "confiável com restrições", para artigos que atingiram a pontuação média porém não ultrapassaram da mesma, são considerados potencialmente úteis porém, necessitam verificar a sua relevância para o propósito pretendido. E a última categoria é "não confiável", onde os artigos atingiram pontuação abaixo da média e geralmente não devem ser usados como estudo chave, mas dependendo das deficiências do estudo, ainda podem ser úteis em abordagens de peso de evidência ou como informação de suporte. Através do uso dessa ferramenta foi possível fazer o agrupamento e categorização dos estudos selecionados no presente trabalho (**Figura 6**).

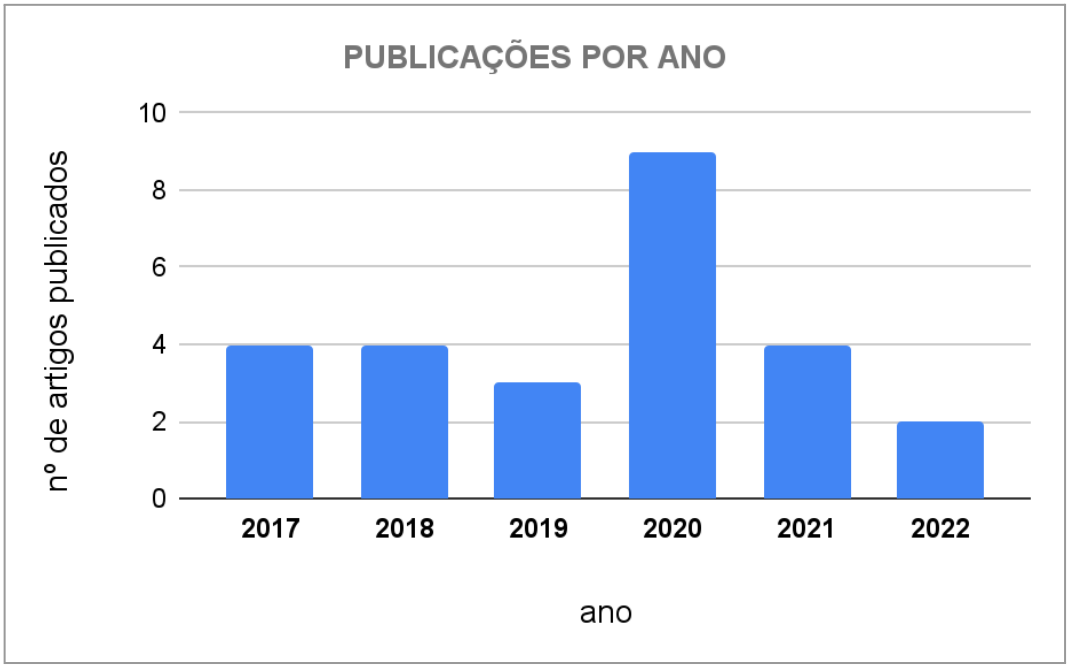
A ferramenta "ToxRTool" foi escolhida após a classificação dos estudos com base em suas características acadêmicas e metodológicas, que demonstrou que os 26 estudos eram de natureza experimental, contendo dados e informações sobre elementos e substâncias citotóxicas (**Tabela 3**). Ação que também é recomendada pelo PRISMA.

4. Resultados

Dos 53 trabalhos identificados e captados do banco de dados do PubMed, após os mesmos passarem pela triagem, onde seu título e resumo foram avaliados, e depois da análise de seu conteúdo, os estudos foram eleitos e incluídos na presente revisão sistemática. Também é válido lembrar que todos os artigos passaram pela avaliação dos critérios de seleção já mencionados. Assim, restando 26 artigos avaliados e precisamente selecionados.

Em relação aos 26 artigos filtrados e selecionados, a **Figura 2** apresenta o número de estudos que foram publicados por ano, no período entre 2017 a 2022.

Figura 2. Quantidade de trabalhos publicados por ano de (2017-2022)



Fonte: Autor, 2023.

Contudo, 19 artigos foram prontamente eliminados durante o processo de triagem por não corresponderem a nenhum dos critérios de seleção estabelecidos, entre eles 4 se tratavam de trabalhos de revisões sistemáticas de anos anteriores, que decidimos não utilizar para evitar possíveis vieses de publicação e manter a apuração dos dados atualizada, conforme as orientações do PRISMA.

Também foram selecionados 8 artigos para exclusão no processo de seleção final, pois apesar de corresponderem com maior parte dos critérios de seleção,

esses trabalhos utilizaram a técnica de western blot para analisar o resultado dos tratamentos das células com piperina. Pois apesar de contar com mecanismos de estudos diferentes, esta técnica também pode ser utilizada para analisar o tratamento de tumores pelo fármaco piperina (Syed S.B. et al, 2021; Javed, B. et al, 2021). Porém, como o foco do presente trabalho se concentra nos estudos que fizeram uso da técnica de citometria de fluxo para analisar os resultados dos tratamentos, os oito artigos também foram eliminados.

Além disso, é válido ressaltar que foi considerada e aceita, a permanência de dois trabalhos que além de corresponderem a todos os critérios de seleção, os autores utilizaram ambas as técnicas de análise (citometria de fluxo/western blot) para mostrar o resultado do tratamento, e evidenciar a indução da apoptose/morte celular nas células cancerígenas através do uso da piperina (Gunasekaran, V. et al., 2017; Chen, H. et al., 2020).

Posteriormente, foram descritos e classificados os dados dos 26 artigos selecionados conforme as recomendações do PRISMA (**Tabela 3**), em que são apresentados: autor principal, ano de publicação, país da pesquisa, tipo de estudo, número de citações a respeito do artigo e a metodologia de diagnóstico que foi trabalhada (citometria de fluxo). Portanto, percebeu-se que todos os estudos selecionados eram do tipo experimental com foco em aplicações e testes toxicológicos.

Tabela 3. Classificação dos artigos selecionados.

Autor	Ano	País	Tipo de Estudo	Tipo de Câncer	Testes	Espécies Testadas	Metodologia
Siddiqui S. et al.	2017	India	Experimental	carcinoma oral	*in vitro*	- -	citometria de fluxo
Gunasekaran V. et al	2017	India	Experimental	câncer de fígado	*in vivo e in vitro*	*Rattus norvegicus*	citometria / western blot
Fan L. et al.	2017	Mongólia	Experimental	câncer de mama	*in vivo e in vitro*	*Rattus norvegicus*	citometria de fluxo
Han, S.-Z. et al.	2017	China	Experimental	câncer cervical	*in vivo e in vitro*	*Rattus norvegicus*	citometria de fluxo
Zeng Y. et al.	2018	EUA	Experimental	câncer de próstata	*in vitro*	- -	citometria de fluxo
Li H. et al.	2018	Alemanha	Experimental	adenocarcinoma e leucemia	*in vitro*	- -	citometria de fluxo
Si, L. et al.	2018	China	Experimental	câncer de ovário	*in vitro*	- -	citometria de fluxo

Khamis, A. A. A. et al.	2018	Egito	Experimental	câncer de mama	*in vitro*	- -	citometria de fluxo
Di Meo, F. et al.	2019	Itália	Experimental	mesotelioma	*in vivo e in vitro*	*Rattus norvegicus*	citometria de fluxo
Xie, Z. et al.	2019	China	Experimental	câncer cervical	*in vitro*	- -	citometria de fluxo
George K. et al	2019	India	Experimental	câncer de próstata	*in vitro*	- -	citometria de fluxo
Chen, D. et al.	2020	China	Experimental	câncer de mama	*in vitro*	- -	citometria de fluxo
Rad JG and Hoskin DW.	2020	Canadá	Experimental	câncer de mama	*in vitro*	- -	citometria de fluxo
Bolat, Z. B. et al.	2020	Turquia	Experimental	câncer colorretal	*in vitro*	- -	citometria de fluxo
Yapasert, R. et al.	2020	Tailândia	Experimental	carcinoma hepatocelular e colorretal	*in vivo e in vitro*	*Gallus gallus domesticus (embrião)*	citometria de fluxo
Li, N. et al.	2020	China	Experimental	leucemia	*in vitro*	- -	citometria de fluxo
Qi, Y. et al.	2020	China	Experimental	osteossarcoma humano	*in vitro*	- -	citometria de fluxo
Jeong, S. et al.	2020	Coreia do Sul	Experimental	glioma humano	*in vitro*	- -	citometria de fluxo
Shaheer K. et al.	2020	India	Experimental	adenocarcinoma colorretal	*in vitro*	- -	citometria de fluxo
Chen, H. et al.	2020	China	Experimental	câncer de estômago	*in vivo e in vitro*	*Rattus norvegicus*	citometria / western blot
Quarti, J. et al.	2021	Brasil	Experimental	leucemia	*in vitro*	- -	citometria de fluxo
Srivastava, S. et al.	2021	India	Experimental	câncer colorretal	*in vivo e in vitro*	*Mus musculus*	citometria de fluxo
Chaudhari, V. S. et al.	2021	India	Experimental	carcinoma oral	*in vivo e in vitro*	*Rattus norvegicus*	citometria de fluxo
Li, S. et al.	2021	China	Experimental	câncer de fígado e mama	*in vivo e in vitro*	*Mus musculus*	citometria de fluxo
Elimam DM, et al.	2022	Egito	Experimental	câncer de mama, ovário e hepatocelular	*in vitro*	- -	citometria de fluxo
Rittibet Yapasert, et al.	2022	Tailândia	Experimental	colangiocarcinoma	*in vitro*	- -	citometria de fluxo

Fonte: Autor, 2023.

Apoiando-se nas informações da **Tabela 3**, é possível observar que o número de publicações por países foi liderado pela China (com 8 publicações), seguido pela Índia (com 6 publicações), Egito e Tailândia (ambos com 2 publicações cada), outros países como Mongólia, EUA, Alemanha, Itália, Canadá, Turquia, Coreia do Sul e Brasil (com uma publicação cada). Como demonstrado na **Figura 3.**

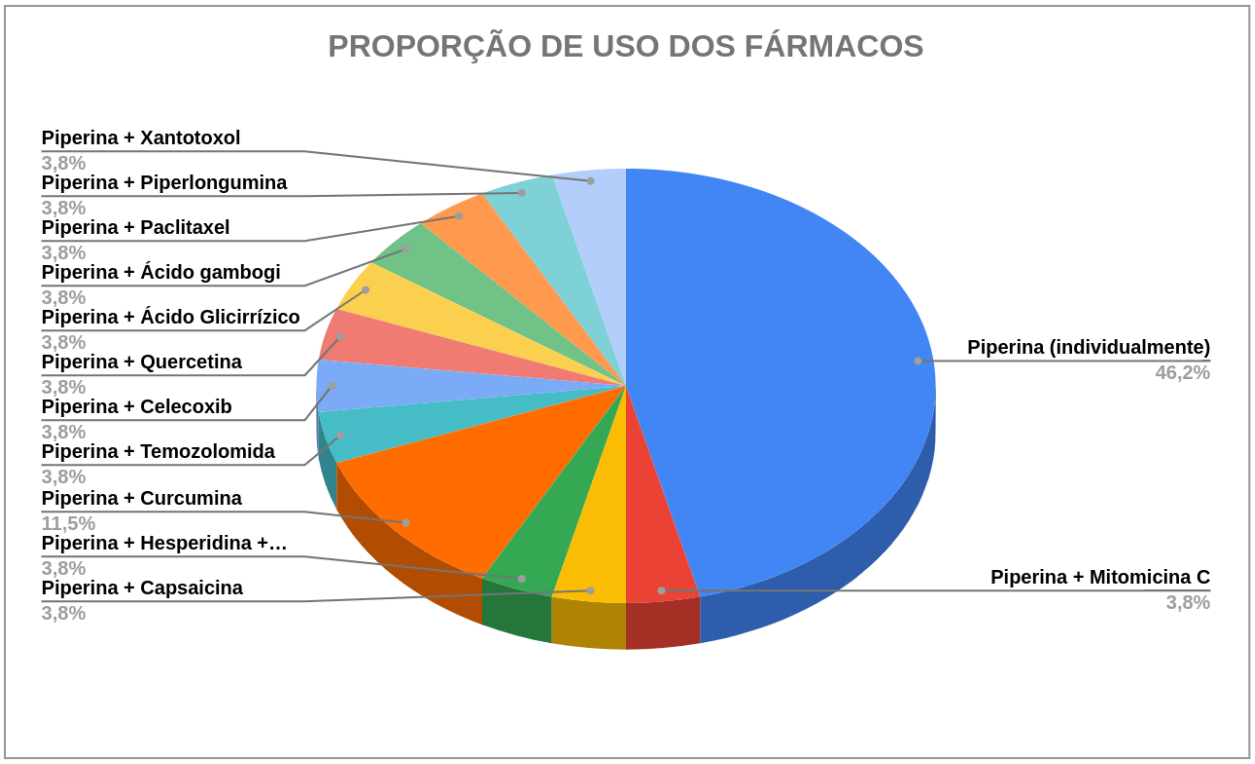
Figura 3. Número de publicações por países, dentro do grupo amostral.



Fonte: Autor, 2023.

Também foi possível evidenciar os fármacos e medicamentos antitumorais utilizados nos 26 estudos selecionados, assim como a proporção em que cada um deles foi aplicado junto a piperina nos tratamentos (**Figura 4**). Sendo eles 11 fármacos naturais e 2 quimioterápicos. Vale ressaltar que também foi exibida a proporção de artigos que utilizaram a piperina de maneira individual nos estudos.

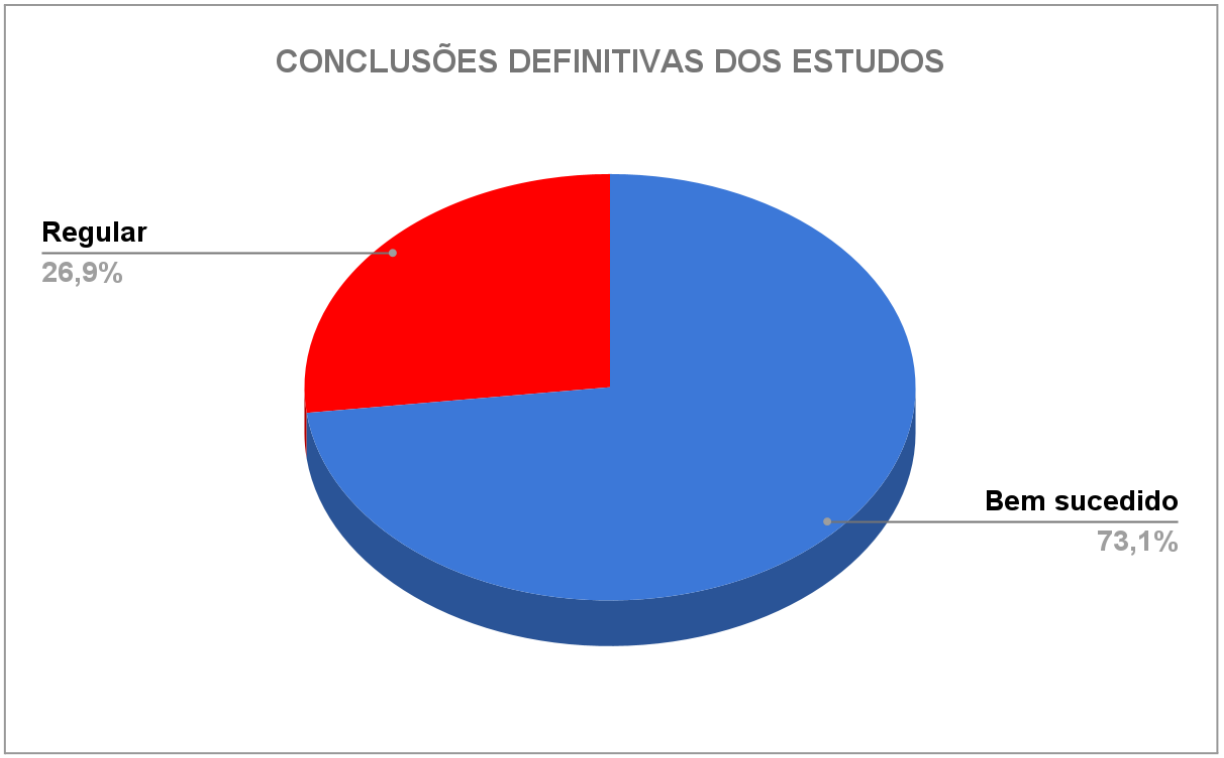
Figura 4. Piperina administrada individualmente e junto a outros fármacos nos estudos selecionados.



Fonte: Autor, 2023.

Do mesmo modo, procedeu-se à categorização das conclusões definitivas de cada um dos artigos selecionados, objetivando disponibilizar uma síntese concisa e precisa dos resultados alcançados pelos estudos contemplados na revisão. Esta ação visou proporcionar uma compreensão geral das informações em curto espaço de tempo. A categorização das conclusões definitivas foi aplicada em diferentes grupos como, "Bem sucedidos", "Regular" (mais pesquisas são necessárias), e "Inconclusivos". Com o propósito de destacar as tendências no resultado final da literatura revisada, (**Figura 5**). Nenhum dos artigos demonstrou um desfecho com informações e resultados inconclusivos.

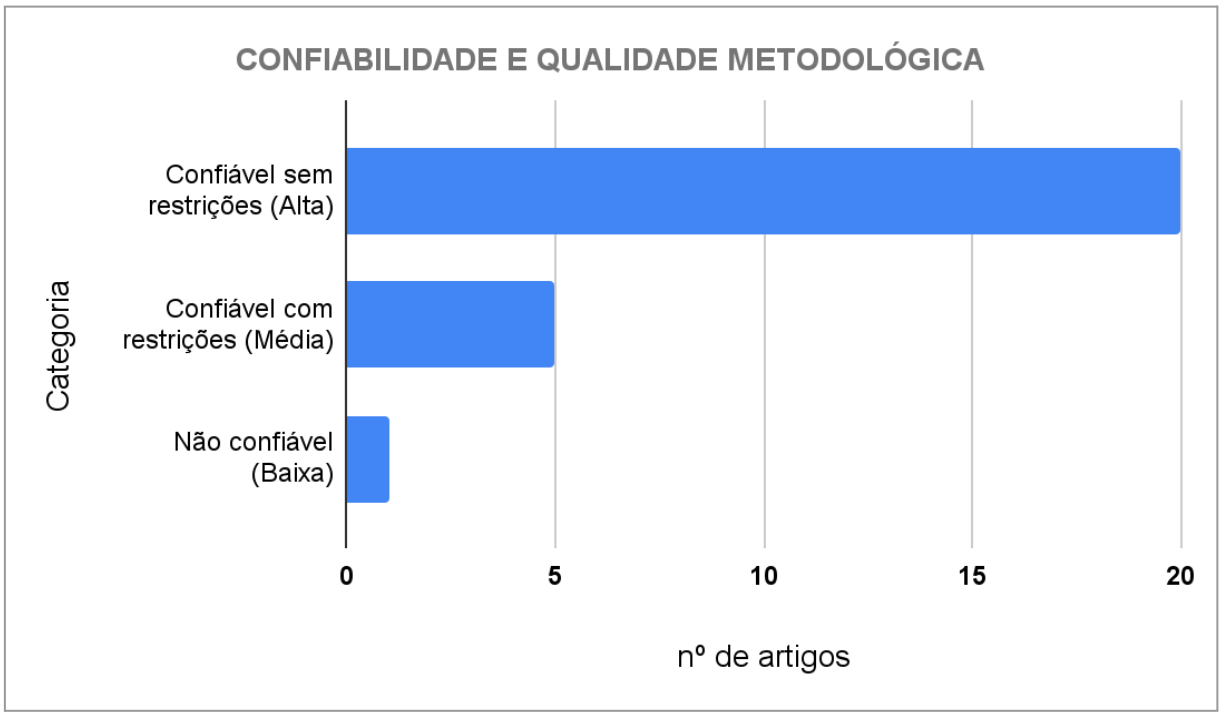
Figura 5. Uma visão geral do desfecho conclusivo dos artigos selecionados.



Fonte: Autor, 2023.

Os 26 artigos selecionados passaram pelo teste de avaliação da sua qualidade, confiabilidade metodológica e de possíveis vieses de publicação. Que eventualmente poderiam desqualificar a qualidade do presente estudo caso os artigos apresentassem uma baixa qualidade e credibilidade acadêmica. O teste foi realizado com o uso do ToxRTool (Ferramenta de avaliação de confiabilidade de dados toxicológicos), assim evidenciando a qualidade metodológica dos artigos selecionados (**Figura 6**).

Figura 6. Avaliação da confiabilidade e qualidade metodológica dos artigos selecionados.



Fonte: Autor, 2023.

Durante a leitura dos artigos selecionados no presente estudo de revisão sistemática. Surgiram 4 artigos onde ferramentas de nanotecnologia foram utilizadas para melhorar a entrega e biodisponibilidade da piperina e outros fármacos nas células tumorais, com o propósito de intensificar os resultados dos tratamentos.

Tabela 4. Artigos que utilizaram nanotecnologia nos estudos de citotoxicidade.

Autor	Ano	País	Nanotecnologia utilizada
Rad JG and Hoskin DW.	2020	Canadá	Nanopartículas poliméricas
Bolat, Z. B. et al.	2020	Turquia	Nanoformulações emulsificantes
Chaudhari, V. S. et al.	2021	India	Transportadores lipídicos nanoestruturados
Li, S. et al.	2021	China	Nanopartículas à base de PLGA

Fonte: Autor, 2023.

5. Discussão

A base de dados do PubMed se mostrou além de confiável, uma fonte de informações muito eficaz e precisa durante o processo de busca e captação dos 53 artigos analisados na presente revisão sistemática. Que após passarem pelo processo de análise dos critérios de seleção estabelecidos, restaram 26 artigos precisamente selecionados. Isso se explica pelo fato do PubMed facilitar o acesso de pesquisadores de diversas áreas a uma grande variedade de pesquisas, sendo a maior parte delas relacionadas a diversos temas de interesse biomédico. Justamente pelo PubMed ser constituído por um grande banco de dados, contendo um grande número de trabalhos acadêmicos, citações e resumos de investigações em biomedicina (Sales, O. M. M.; Pinto, V. B. et al., 2016). O que consequentemente inclui estudos sobre oncologia, farmacologia, citotoxicidade, entre outros. Conforme é evidenciado em outras revisões sistemáticas, onde o PubMed foi uma das principais fontes de dados para a busca de estudos sobre a citotoxicidade dos cimentos de silicato de cálcio, e também dos aditivos do tabaco (Paumgartten, F. J. R. et al., 2017; Eilers, V. S., 2021).

O método PRISMA juntamente de suas diretrizes e ferramentas, foram de extrema importância para a confecção detalhada do presente trabalho, pois ele forneceu as devidas orientações e instruções sobre a melhor maneira de se construir e desenvolver uma pesquisa de revisão sistemática com alta qualidade metodológica. Além de ser reconhecido academicamente como um dos principais métodos para a elaboração e apresentação de revisões sistemáticas e metanálises, o PRISMA também visa ajudar os autores a melhorar relatórios voltados a esses estudos (Page; et al. 2022). Como por exemplo nos estudos de Silva Leite; Senna Araújo Brito (2021) e Eilers, V. S. (2021), que se guiaram pelas diretrizes do PRISMA, para desenvolverem suas pesquisas de revisão sistemática na área da saúde.

O PostgreSQL exerceu um grande auxílio como ferramenta de armazenamento, organização e administração de dados e informações importantes de cada artigo analisado, tanto dos artigos que foram selecionados quanto dos que não foram selecionados. Essa ferramenta possibilitou o fácil agrupamento dos artigos em um banco de dados simples e claro, como também agilizou a compreensão das informações neles contidas, proporcionando a categorização dos

dados encontrados. Também é possível observar a ferramenta sendo usada da mesma maneira no trabalho de Shaikh, M. et al. (2022), onde o PostgreSQL foi utilizado para armazenar e administrar dados e informações hospitalares dos artigos.

Do mesmo modo, as ferramentas Google Excel e Docs cumpriram o seu objetivo de armazenar e organizar dados e informações dos artigos selecionados. E através desses dados, construir tabelas e gráficos que expressam de forma organizada e simplificada as principais informações extraídas dos artigos durante a presente revisão sistemática. A **Tabela 3** de classificação dos artigos selecionados, onde são mostradas as características metodológicas e acadêmicas de cada estudo, é um bom exemplo de como sucedeu-se a eficácia e precisão das ferramentas utilizadas.

Com o auxílio da base de dados PubMed, juntamente das informações registradas no banco de dados do PostgreSQL e das demais metodologias utilizadas, realizou-se a quantificação individual de cada ano entre 2017 a 2022, do número de artigos selecionados que foram publicados nesse período, sendo que o ano de 2020 apresentou o dobro de publicações em relação aos anos anteriores e posteriores (**Figura 2**). Uma das hipóteses que justificam esse desfecho, seria em grande parte, devido à pandemia do COVID-19 entre o fim de 2019 a meados de 2020, onde a pandemia teve seu início e rápido crescimento do número de casos. Pois muitas pesquisas clínicas e experimentais foram interrompidas, resultando em uma mudança de foco para a pesquisa de tratamentos de COVID-19. No entanto, as pesquisas de tratamento de câncer continuaram a ser uma prioridade, resultando em um aumento no número de estudos e publicações de vários tratamentos. Como é possível observar no estudo de Saini, K. S. et al. (2020), onde os autores relatam as mudanças na prática clínica, incluindo o adiamento de procedimentos efetivos e também abordam os desafios enfrentados na condução de estudos clínicos durante a pandemia.

Com o auxílio das mesmas informações armazenadas referentes aos 26 artigos selecionados, e orientando-se nos dados da **Tabela 3**, foi possível observar quais os países que se destacaram em número de publicações realizadas entre os períodos de 2017 a 2022. Sendo a China e a Índia os países que protagonizaram em números de publicações em todo esse período (**Figura 3**). Fato esse que é válido, pois tanto a China quanto a Índia têm se destacado no cenário das pesquisas farmacológicas e oncológicas nos últimos anos. Ambos os países possuem um

grande número de indústrias farmacêuticas e biotecnológicas que estão investindo em pesquisas e desenvolvimento de novos medicamentos contra o câncer (Abrol, D. et al., 2016; American Chemical Society [CAS], 2018; Xiang, Y. et al., 2019; Mccall, C., 2021). Desta forma, foi possível observar as regiões do planeta onde a pesquisa sobre a ação da piperina na apoptose ou morte de células cancerígenas, através do ensaio de citometria de fluxo, recebeu maior atenção e foi aplicada com maior intensidade nesse período de tempo.

Por meio das informações encontradas em cada um dos resultados discutidos anteriormente, foi possível responder a primeira das três perguntas do objetivo deste trabalho, “ Quantos artigos publicados entre os anos de 2017 e 2022 abordam o estudo da ação da piperina na apoptose ou morte de células cancerígenas, através do ensaio de citometria de fluxo? ”.

5.1 Piperina administrada junto a outros fármacos e a conclusão geral dos estudos selecionados

As informações levantadas sobre os fármacos e medicamentos que foram aplicados junto à piperina nos estudos de citotoxicidade de cada artigo selecionado, com o propósito de potencializar o efeito citotóxico nas células cancerígenas. Juntamente das informações de estudos onde a piperina foi aplicada e estudada individualmente nesses testes (**Figura 4**). Evidenciou que no período de tempo de 2017 a 2022, apesar de terem havido resultados promissores a respeito dos fármacos capazes de potencializar a citotoxidade nos tumores quando aplicados juntos à piperina, a proporção de estudos a respeito da ação dos mesmos ainda é baixa e são necessárias mais pesquisas sobre o tema para confirmar a eficácia desses medicamentos.

Porém é válido ressaltar que entre eles a curcumina se mostrou o fármaco que teve a maior proporção de uso junto à piperina, representando 3 artigos (11,5%) dos 26 estudos selecionados, revelando que houve um maior interesse entre os pesquisadores no uso conjunto desses dois componentes naturais. Isso é válido, pois tanto a curcumina quanto a piperina são compostos naturais encontrados em plantas e têm propriedades farmacológicas semelhantes, incluindo atividades anti-inflamatórias, antioxidantes e antitumorais. Além disso, estudos já mostraram que a combinação de curcumina e piperina pode ter sinergia na atividade antitumoral, aumentando ainda mais sua eficácia contra o câncer. Podendo também

ajudar na redução da inflamação, na prevenção de danos oxidativos e de outras doenças crônicas (Di Meo, F. et al., 2019; Bolat, Z. B. et al., 2020; Li, N. et al., 2020). Contudo, os artigos que estudaram e aplicaram a piperina de maneira individual nos tratamentos, tiveram a maior proporção de uso, representando 12 artigos (46,2%) dos 26 estudos selecionados, demonstrando que mesmo quando usada de forma individual nos testes de citotoxicidade, a piperina tem um bom desempenho e consegue cumprir com os objetivos esperados.

Através da análise das conclusões definitivas de cada um dos 26 artigos selecionados (**Figura 5**), foi possível observar de forma geral e clara as tendências em que os resultados finais das pesquisas realizadas na presente revisão sistemática estão chegando. Todo o processo foi realizado seguindo o esquema de categorização pré-estabelecido para cada tipo diferente de desfecho. Deste modo foi revelado que aproximadamente 73% dos artigos selecionados obtiveram uma conclusão completamente bem sucedida em seus objetivos. Enquanto aproximadamente 27% obtiveram uma conclusão regular, onde mais pesquisas são necessárias para desenvolver melhor os estudos e reforçar as conclusões estabelecidas.

Portanto, foi através das informações dos fármacos e medicamentos que foram utilizados juntos à piperina e a proporção de seu uso. Assim como os resultados levantados sobre a análise geral das conclusões definitivas de cada artigo selecionado. Foi possível responder a segunda pergunta do objetivo deste trabalho, "Como esses estudos foram desenvolvidos nesse período de tempo?”.

5.2 Análise da confiabilidade e da qualidade metodológica dos estudos selecionados pelo ToxRTool

Pela ferramenta ToxRTool (Ferramenta de avaliação de confiabilidade de dados toxicológicos), foi realizado o teste de qualidade, confiabilidade metodológica e de possíveis vieses de publicação dos artigos selecionados, seguindo todas as diretrizes de pontuações e categorizações estabelecidas pela ferramenta (**Quadro 1**). Cujo os resultados foram, 20 artigos de alta qualidade com metodologias confiáveis e sem restrições, pois atingiram uma pontuação acima da média, portanto são considerados estudos de alta confiabilidade. Em seguida 5 artigos apresentaram qualidade mediana com metodologias confiáveis porém, com restrições. Pois apesar de terem atingido a pontuação média, não ultrapassaram a mesma. Fazendo com

que apesar de sua utilidade, ainda é necessário verificar a sua relevância para o propósito pretendido. E por fim, somente 1 artigo apresentou baixa qualidade, possuindo uma metodologia não muito confiável, pois atingiu pontuação abaixo da média (**Figura 6**). Portanto, seu uso não é indicado como estudo chave, mas dependendo das deficiências da pesquisa em questão, ainda pode ser útil em abordagens de peso de evidência ou como informação de suporte. Desta maneira ficou evidente que a maioria dos 26 estudos selecionados na presente revisão sistemática, excetuando um artigo, tratam-se de estudos com boa qualidade metodológica e elevada confiabilidade acadêmica.

Também é possível observar que a ferramenta ToxRTool auxiliou igualmente outros pesquisadores na análise da qualidade e confiabilidade metodológica de estudos de outras revisões sistemáticas, também relacionadas a área da citotoxicidade (Schneider K. et al., 2009; Caldas, I. P. et al., 2019; Nagy, K. et al., 2020; Liu, Q. et al., 2023). Garantindo assim, segurança aos pesquisadores em utilizar esses artigos para a confecção de suas pesquisas.

5.3 A nanotecnologia trazendo uma nova perspectiva para os tratamentos

Durante a leitura dos 26 artigos selecionados no presente estudo de revisão sistemática, entre as diversas informações abordadas durante as análises dos conteúdos. Surgiram 4 artigos que apresentaram estudos onde a nanotecnologia foi utilizada para melhorar a biodisponibilidade da piperina e outros fármacos de maneira específica, seletiva e precisa nas células tumorais (Rad JG and Hoskin DW., 2020; Bolat, Z. B. et al., 2020; Chaudhari, V. S. et al., 2021; Li, S. et al., 2021). Tudo isso através do carregamento de moléculas de piperina por meio de várias ferramentas nanotecnológicas como por exemplo nanopartículas, nanocápsulas poliméricas entre outras. Com o objetivo de intensificar os efeitos citotóxicos e antitumorais da piperina nas células cancerígenas, por melhorar a entrega desses fármacos a essas regiões. Contudo, os 4 artigos que introduziram essa ferramenta em seus estudos, foram produzidos entre os anos de 2020 e 2021, evidenciando de maneira clara que a nanotecnologia ainda é uma ferramenta de uso muito recente nos estudos de citotoxidade da piperina, e precisa passar por mais estudos e testes para confirmar a sua efetividade. Porém ainda sim, a nanotecnologia se mostra uma nova alternativa para os estudos e testes de citotoxicidade de células cancerígenas envolvendo a piperina.

Por meio dessas informações foi possível responder a terceira e última pergunta do objetivo, “Quais as novidades e perspectivas para esse tipo de tratamento?”. Pois as ferramentas nanotecnológicas apresentam uma novo horizonte de possibilidades, em que os estudos e testes de citotoxicidade da piperina podem ser explorados. Consequentemente, aumentando o arsenal dos pesquisadores no combate ao avanço e desenvolvimento de diversos tipos de câncer.

6. Conclusão

Pela presente revisão sistemática da literatura conclui-se que, os estudos sobre a ação da piperina na apoptose ou morte de células cancerígenas, pelo ensaio de citometria de fluxo, se desenvolveram muito nos últimos 6 anos (2017-2022), demonstrando um total de 26 artigos selecionados, os quais apresentaram muitos resultados promissores e otimistas sobre a citotoxicidade da piperina, principalmente na indução da apoptose/morte das células tumorais, assim como a citometria de fluxo se mostrou uma ferramenta de extrema utilidade e precisão, nas análises dos resultados desses tratamentos. Porém ainda são necessárias mais pesquisas para solidificar e aprimorar os conhecimentos sobre as capacidades antitumorais e apoptóticas da piperina. Como também, o seu uso junto a outros fármacos naturais, especialmente a curcumina, visando intensificar a sua ação. Do mesmo modo, os estudos sobre o uso da nanotecnologia nos tratamentos com a piperina também precisam de mais dados, embora venham demonstrando sucesso em algumas pesquisas, trazendo assim, uma nova perspectiva no desenvolvimento de estudos futuros.

Referências

Abrol, D. et al. Building inclusive health innovation systems: lessons from India. Cadernos de Saúde Pública, v. 32, n. suppl 2, 2016.

Andreou M, Vartholomatos E, Harissis H, Markopoulos GS, Alexiou GA. Past, Present and Future of Flow Cytometry in Breast Cancer - A Systematic Review. EJIFCC. 2019 Nov 25;30(4):423-437. PMID: 31814815; PMCID: PMC6893890.

Anshuly Tiwari, Kakasaheb R. Mahadik, Satish Y. Gabhe. Piperine: A comprehensive review of methods of isolation, purification, and biological properties. Medicine in Drug Discovery. Elsevier, Volume 7, 100027. p. 1-21, September, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.medidd.2020.100027.

Aparecida Carvalho França, A. et al. Piperine's Potentials: a Study Carried out by Means of Scientific and Technological Prospection Techniques. Revista Virtual de Química, v. 13, n. 2, p. 310–322, 2021.

Bolat ZB, Islek Z, Demir BN, Yilmaz EN, Sahin F and Ucisik MH (2020) Curcumin- and Piperine-Loaded Emulsomes as Combinational Treatment Approach Enhance the Anticancer Activity of Curcumin on HCT116 Colorectal Cancer Model. Front. Bioeng. Biotechnol. 8:50. doi: 10.3389/fbioe.2020.00050.

Braga, K. M. DA S. et al. Citometria De Fluxo: Histórico, Princípios Básicos e Aplicações em Pesquisa. Enciclopédia Biosfera, v. 13, n. 23, p. 304–319, 22 jun. 2016.

Caldas IP, Alves GG, Barbosa IB, Scelza P, de Noronha F, Scelza MZ. In vitro cytotoxicity of dental adhesives: A systematic review. Dent Mater. 2019 Feb;35(2):195-205. doi: 10.1016/j.dental.2018.11.028. Epub 2018 Dec 4. PMID: 30527507.

Caroline MA. Três motivos pelos quais a biotecnologia está em ascensão na China: como você pode capitalizar o crescimento? American Chemical Society, 2018. Disponível em: <https://www.cas.org/pt-br/resources/blog/tres-motivos-pelos-quais-biotecnologia-esta-em-ascensao-na-china-como-voce-pode>. Acesso em: 6 Mai 2023.

Comissão Europeia. Centro Científico da UE. ToxRTool - Toxicological data reliability assessment tool: O ToxRTool fornece critérios e orientações abrangentes para avaliar a confiabilidade dos dados toxicológicos. 2009. Prepared by the European Commission. Disponível em:

https://joint-research-centre.ec.europa.eu/scientific-tools-and-databases/toxrtool-toxicological-data-reliability-assessment-tool_en. Acesso em: 22 out. 2022.

Chen D, Ma Y, Guo Z, Liu L, Yang Y, Wang Y, Pan B, Wu L, Hui Y, Yang W. Two Natural Alkaloids Synergistically Induce Apoptosis in Breast Cancer Cells by Inhibiting STAT3 Activation. Molecules. 2020 Jan 5;25(1):216. doi: 10.3390/molecules25010216. PMID: 31948057; PMCID: PMC6982934.

Chen H, Sheng H, Zhao Y, Zhu G. Piperine Inhibits Cell Proliferation and Induces Apoptosis of Human Gastric Cancer Cells by Downregulating Phosphatidylinositol 3-Kinase (PI3K)/Akt Pathway. Med Sci Monit. 2020 Dec 31;26:e928403. doi: 10.12659/MSM.928403. PMID: 33382670; PMCID: PMC7784594.

Cristiane, M. et al. Esta obra está licenciada sob uma Licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (cc BY 4.0) Revisão Sistemática da Literatura: Conceituação, Produção e Publicação Systematic Literature Review: Concept, Production and Publication. [s.d.].

Dalby, Andrew. Dangerous Tastes: The Story of Spices. University of California Press, 2002.

D'Amato Figueiredo, M.V.; Alexiou, G.A.; Vartholomatos, G.; Rehder, R. Advances in Intraoperative Flow Cytometry. Int. J. Mol. Sci. 2022, 23, 13430. https://doi.org/10.3390/ijms232113430.

Demarchi PKH, Maurer E, Pierini NI, Lammel BL, Sirqueira ACV, Maggi LS, Santos KL, Shama S de FMS. O Impacto da Pandemia da Covid-19 no Volume de Mamografias no Brasil: uma Análise de Previsão Baseada nos Números Históricos. Rev. Bras. Cancerol. [Internet]. 19º de setembro de 2022 [citado 16º de agosto de 2023];68(3):e-232566. Disponível em: https://rbc.inca.gov.br/index.php/revista/article/view/2566.

Di Meo, F. et al. Curcumin C3 complex®/Bioperine® has antineoplastic activity in mesothelioma: an in vitro and in vivo analysis. Journal of experimental & clinical cancer research: CR, v. 38, n. 1, p. 360, 16 ago. 2019.

Do Nascimento Sousa, B. et al. As Causas, Prevenção e Tratamentos do Câncer no Colo do Útero: Uma Revisão da Literatura. Recisatec - Revista Científica Saúde e Tecnologia - ISSN 2763-8405, v. 1, n. 3, p. e1329, 17 out. 2021.

Eilers, V. S. A citotoxicidade e a genotoxicidade dos cimentos de silicato de cálcio são comparáveis a dos cimentos de resina epóxi ? uma revisão sistemática. lume.ufrgs.br, 2021.

Furlanetto, G. et al. Flow cytometry as a diagnostic tool in childhood solid tumors. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, v. 57, 2021.

Gunasekaran V, Elangovan K, Niranjali Devaraj S. Targeting hepatocellular carcinoma with piperine by radical-mediated mitochondrial pathway of apoptosis: An in vitro and in vivo study. Food Chem Toxicol. 2017 Jul;105:106-118. doi: 10.1016/j.fct.2017.03.029. Epub 2017 Mar 21. PMID: 28341137.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (INCA). Estatísticas de câncer. Disponível em: https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros. Acesso em: 17 jun. 2022.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (INCA). Tratamento do câncer. Disponível em: https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tratamento. Acesso em: 17 jun. 2022.

Jardim BC, Migowski A, Corrêa FM, Azevedo e Silva G. Covid-19 no Brasil em 2020: impacto nas mortes por câncer e doenças cardiovasculares. Rev Saúde Pública. 2022;56:22. https://doi.org/10.11606/s1518-8787.2022056004040.

Javed B, Zhao X, Cui D, Curtin J, Tian F. Enhanced Anticancer Response of Curcumin- and Piperine-Loaded Lignin-g-p (NIPAM-co-DMAEMA) Gold Nanogels against U-251 MG Glioblastoma Multiforme. Biomedicines. 2021 Oct 21;9(11):1516. doi: 10.3390/biomedicines9111516. PMID: 34829745; PMCID: PMC8615061.

Li N, Wen S, Chen G, Wang S. Antiproliferative potential of piperine and curcumin in drug-resistant human leukemia cancer cells are mediated via autophagy and apoptosis induction, S-phase cell cycle arrest and inhibition of cell invasion and migration. J BUON. 2020 Jan-Feb;25(1):401-406. PMID: 32277661.

Liu, Qian, An Li, Shizhen Liu, Qingyun Fu, Yichen Xu, Jingtao Dai, Ping Li, and Shulan Xu. 2023. "Cytotoxicity of Biodegradable Zinc and Its Alloys: A Systematic Review" Journal of Functional Biomaterials 14, no. 4: 206. https://doi.org/10.3390/jfb14040206.

Masic I, Begic E. Biomedical Scientific and Professional Social Networks in the Service of the Development of Modern Scientific Publishing. Acta Inform Med. 2016 Dec;24(6):409-412. doi: 10.5455/aim.2016.24.409-412. PMID: 28077905; PMCID: PMC5203733.

Masic I, Milinovic K. On-line biomedical databases-the best source for quick search of the scientific information in biomedicine. Acta Inform Med. 2012 Jun;20(2):72-84. doi: 10.5455/aim.2012.20.72-84. PMID: 23322957; PMCID: PMC3544328.

MCCALL, C. China’s oncology drug market on the rise. The Lancet Oncology, v. 22, n. 5, p. 586–587, 1 maio 2021.

Mitra S, Anand U, Jha NK, Shekhawat MS, Saha SC, Nongdam P, Rengasamy KRR, Proćków J and Dey A (2022) Anticancer Applications and Pharmacological Properties of Piperidine and Piperine: A Comprehensive Review on Molecular Mechanisms and Therapeutic Perspectives. Front. Pharmacol. 12:772418. doi: 10.3389/fphar.2021.772418.

Nagy K, Duca RC, Lovas S, Creta M, Scheepers PTJ, Godderis L, Ádám B. Systematic review of comparative studies assessing the toxicity of pesticide active ingredients and their product formulations. Environ Res. 2020 Feb;181:108926. doi: 10.1016/j.envres.2019.108926. Epub 2019 Nov 20. PMID: 31791711.

Oncoguia, I. Estimativas de Câncer no Brasil. Disponível em: <http://www.oncoguia.org.br/conteudo/estimativas-no-brasil/1705/1/#:~:textO%20Brasil%20 dever%C3%A1%20 registrar%20625> Acesso em: 28 set 2022.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (WHO). Câncer. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab1. Acesso em: 12 jun. 2022.

Page, M. J. et al. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. British Medical Journal, v. 372, n. 71, 29 mar. 2021.

Paumgartten, F. J. R.Gomes-Carneiro, M. R.; Oliveira, A. C. A. X. DE. O impacto dos aditivos do tabaco na toxicidade da fumaça do cigarro: uma avaliação crítica dos estudos patrocinados pela indústria do fumo. Cadernos de Saúde Pública, v. 33, n. suppl 3, 21 set. 2017.

Pereira Bezerra, D. Universidade Federal Do Ceará Faculdade De Medicina Departamento De Fisiologia e Farmacologia Potencial Anticâncer Da Piplartina e Da Piperina, Amidas Isoladas De Plantas Do Gênero Piper. [s.l: s.n.]. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/2270/1/2005_dis_dpbezerra.pdf>. Acesso em: 22 nov. 2022.

Quijia, C. R.; Chorilli, M. Piperine for treating breast cancer: A review of molecular mechanisms, combination with anticancer drugs, and nanosystems. Phytotherapy Research, v. 36, n. 1, p. 147–163, 24 set. 2021.

Rad JG, Hoskin DW. Delivery of Apoptosis-inducing Piperine to Triple-negative Breast Cancer Cells via Co-polymeric Nanoparticles. Anticancer Res. 2020 Feb;40(2):689-694. doi: 10.21873/anticancer.13998. PMID: 32014909.

Ravindra Babu, M. et al. Emerging Diverse Medicinal Properties of Piperine: A Review. [s.l: s.n.]. Disponível em: <https://actascientific.com/ASPC/pdf/ASPC-01-0065.pdf>. Acesso em: 22 nov. 2022.

Rocha, Clarissa Ribeiro Reily. Mecanismos de resistência a quimioterápicos em células tumorais. 2015. 45 f. Tese (Doutorado) - USP/Instituto Butantan/ IPT, São Paulo. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/87/87131/tde-11032016-101628/publico/ClarissaRibeiroReilyRocha_Doutorado_P.pdf. Acesso em: 28 set 2022.

Rodrigues, P.; Prof, O.; Treitinger, A. Universidade Federal de Santa Catarina Centro de Ciências da Saúde Programa de Pós-Graduação em Farmácia Área de Concentração Análises Clínicas Avaliação da Anexina V e Calceína AM como Marcadores de Apoptose em Linfócitos Dissertação para obtenção do grau de Mestre. [s.l: s.n.]. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/102329/221571.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Mar. 2005.

RF, S.; Mancini MC, E. Estudos de Revisão Sistemática: Um Guia Para Síntese Criteriosa da Evidência Científica. Rev. bras. fisioter, v. 11, n. 11, p. 83–89, 2007.
Saini, K. S. et al. Effect of the COVID-19 pandemic on cancer treatment and research. The Lancet Haematology, abr. 2020.

Sales, O. M. M.; PINTO, V. B.; Sousa, M. R. F. DE. Arquitetura da Informação: estudo e análise da base de dados Public Medical (PubMed). Biblios: Journal of Librarianship and Information Science, n. 63, p. 1–12, 1 jul. 2016.

Santos, . L. A. de O. .; Campelo, V. M. de B. .; Costa , N. B. T.; Souza, A. P. P. de .; Santos, F. P. dos .; Campelo, Y. D. M. . The effects of the COVID-19 pandemic on breast cancer diagnosis and treatment, a systematic review of the literature . Research, Society and Development, [S. l.], v. 12, n. 4, p. e18112440446, 2023. DOI: 10.33448/rsd-v12i4.40446. Disponível em: https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/40446. Acesso em: 16 aug. 2023.

Schneider K, Schwarz M, Burkholder I, Kopp-Schneider A, Edler L, Kinsner-Ovaskainen A, Hartung T, Hoffmann S. ToxRTool, uma nova ferramenta para avaliar a confiabilidade de dados toxicológicos. Cartas de Toxicologia 189 (2); 2009. pág. 138-144. JRC51252.

Shaikh, M. et al. Open-source electronic health record systems: A systematic review of most recent advances. Health Informatics Journal, v. 28, n. 2, p. 146045822210998, jan. 2022.

Silva, L. et al. Efeito Citotóxico do Derivado da Imidazopiridina (DSH65) e Seus Principais Mecanismos de Morte Celular em Células de Linfoma DE Burkitt. Hematology, Transfusion and Cell Therapy, v. 44, p. S106, out. 2022.

Silva Leite, F. A.; Senna Araújo Brito, A. Curativos de prata no tratamento de feridas exsudativas - uma revisão sistemática. Revista Feridas, n. 46, p. 1682–1689, 1 mar. 2021.

Sunila ES, Kuttan G. Immunomodulatory and antitumor activity of Piper longum Linn. and piperine. J Ethnopharmacol. 2004 Feb;90(2-3):339-46. doi: 10.1016/j.jep.2003.10.016. PMID: 15013199.

Syed SB, Lin SY, Arya H, Fu IH, Yeh TK, Charles MRC, Periyasamy L, Hsieh HP, Coumar MS. Overcoming vincristine resistance in cancer: Computational design and discovery of piperine-inspired P-glycoprotein inhibitors. Chem Biol Drug Des. 2021 Jan;97(1):51-66. doi: 10.1111/cbdd.13758. Epub 2020 Jul 26. PMID: 32633857.

Tranfield, D.; Denyer, D.; Smart, P. Towards a Methodology for Developing Evidence-Informed Management Knowledge by Means of Systematic Review. British Journal of Management, v. 14, n. 3, p. 207–222, set. 2003.

Xiang, Y. et al. Traditional Chinese medicine as a cancer treatment: Modern perspectives of ancient but advanced science. Cancer Medicine, v. 8, n. 5, p. 1958–1975, 3 abr. 2019.

Zadorozhna M, Tataranni T, Mangieri D. Piperine: role in prevention and progression of cancer. Mol Biol Rep. 2019 Oct;46(5):5617-5629. doi: 10.1007/s11033-019-04927-z. Epub 2019 Jul 4. PMID: 31273611.