

## 13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

---

# CIÊNCIA DE ALIMENTOS

---

---

### EFEITO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE SEMENTE DE AÇAÍ NA PROLIFERAÇÃO E CICLO CELULAR EM LINHAGEM CELULAR HUMANA DE CÂNCER DE PULMÃO

---

<sup>1</sup> Camila Ramos Berniz (IC-CNPq); <sup>1</sup> Janaína Carvalho Guimarães; <sup>1</sup> Anderson Junger Teodoro (Orientador)

1 – Departamento de Tecnologia de Alimentos; Escola de Nutrição; Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro.

Apoio Financeiro: CNPq

Palavras-Chave: açaí; câncer e antioxidante.

---

#### INTRODUÇÃO

O câncer de pulmão é uma das neoplasias mais agressivas dentro do universo da oncologia, com altos índices de mortalidade, devido ao predomínio de doença irremediável ao diagnóstico e à ineficácia do tratamento quimioterápico antineoplásico frente à doença avançada (Zamboni, 2005). Segundo o Instituto Nacional de Câncer, o câncer de pulmão é o mais comum de todos os tumores malignos, apresentando aumento de 2% por ano na sua incidência mundial. A última estimativa mundial apontou incidência de 1,82 milhão de casos novos de câncer de pulmão para o ano de 2012, sendo 1,24 milhão em homens e 583 mil em mulheres. Excluindo-se tumores de pele não melanoma, o grupo dos tumores pulmonares apresenta-se como o terceiro de maior frequência no território nacional (Kissmann et al., 2009). Tabagismo e exposição ocupacional a compostos cancerígenos potenciais são considerados como os principais fatores de risco para câncer de pulmão, sendo que em 90% dos casos diagnosticados, o câncer de pulmão está associado ao consumo de derivados de tabaco. (Wogan et al., 2004). O consumo de vegetais e frutas tem mostrado um efeito protetor para o desenvolvimento do câncer de pulmão, principalmente porque esses alimentos contêm propriedades antioxidantes (BRASIL, 2011). Os antioxidantes têm sido extensivamente estudada por sua capacidade de prevenir o câncer em seres humanos (Singh et al., 1998) O açaí, fruto da palmeira do açaizeiro, apresenta grande potencial para o desenvolvimento de novos medicamentos, onde tem recebido muita atenção nos últimos anos, devido aos benefícios à saúde associado com a alta capacidade antioxidante e composição fitoquímica (Lichtenthaler et al., 2005; Schauss et al., 2006).

#### OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do extrato de semente de açaí sobre a proliferação e ciclo celular de linhagem humana de câncer de pulmão.

#### METODOLOGIA

O extrato hidroalcolico de semente açaí (ESA) foi preparado de acordo com a metodologia descrita por Rocha e colaboradores (2007). A atividade antioxidante do ESA foi avaliada pelo método de DPPH. A linhagem de adenocarcinoma de pulmão (A549) foi obtida a partir do Banco de células da Universidade Federal do Rio de Janeiro, e foi cultivada em meio Dulbecco's e meio DMEM suplementado com 10% FBS e 2 g/L tampão HEPES, pH 7,4, sob atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>. Para cada experimento, todas as células foram plaqueadas, em 104 células/cm<sup>2</sup> em placas de 6 e 96 poços, para análises de ciclo celular e proliferação celular, respectivamente. Após 24 horas, o meio de cultura foi trocado e as células sofreram incubações com diferentes concentrações de extratos de açaí (1.25-400mcg/mL). Células não tratadas foram incluídas em cada placa. A viabilidade celular foi determinada pelos ensaios de MTT (brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difenil- tetrazólio)6. A taxa de inibição da proliferação celular (CPIR) foi calculada utilizando a seguinte fórmula: CPIR = (1-Um valor médio do grupo experimental / Um valor médio do grupo controle) × 100%. A linhagem cancerosa foi incubada durante 48 horas na presença e ausência do extrato de açaí, foi lavada rapidamente com solução salina tamponada (PBS) livre de cálcio e magnésio e foi destacada com auxílio de tripsina em temperatura ambiente. A suspensão celular foi filtrada e analisada para conteúdo de DNA por citometria de fluxo. A percentagem de população de células em uma fase específica foi estimada com EXP032 software de análise V1.2. Os dados experimentais obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparados através do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o programa GraphPad Prism 4.0.

#### RESULTADOS

Na análise da atividade antioxidante do extrato de semente de açaí (ESA) foi observado elevado potencial na redução do radical DPPH, com estabilização a partir de 20 minutos de reação (Figura 1A). A redução máxima foi observada a partir da concentração de 25 mcg/mL do ESA com valor de IC<sub>50</sub> de 13,88 mcg/mL (Figura 1B).

13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

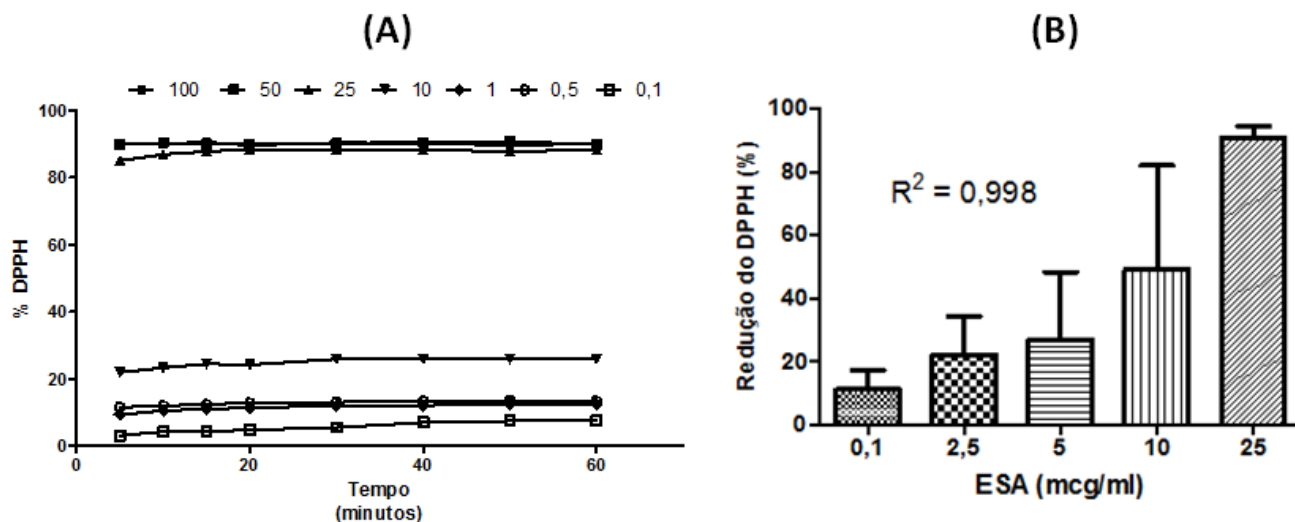


Figura 1. Cinética de redução do radical DPPH após 60 minutos de ação do extrato de semente de açaí (ESA) (0,1-100mcg/mL) (A) e percentual de redução do DPPH pela ação do ESA (0,1-25mcg/mL) (B).

Na avaliação da viabilidade das células de adenocarcinoma de pulmão humano (A549), foram observadas que estas apresentaram uma diminuição na proliferação, após 48 horas de incubação com extrato de semente de açaí, sendo o efeito influenciado pela concentração de ESA utilizada. O percentual de inibição médio foi de 60,22% em concentrações maiores do que 50 mcg/ml (Figura 2).

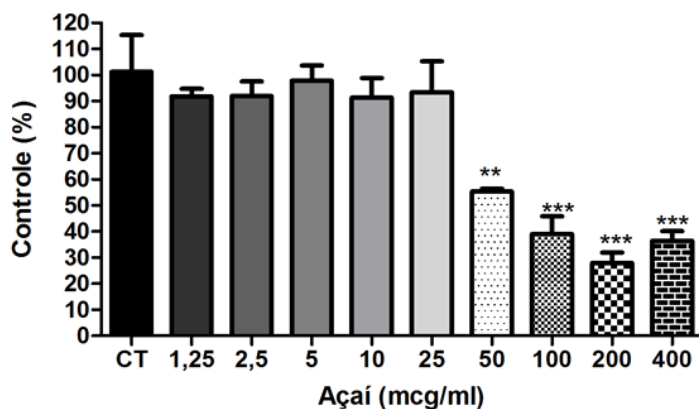


Figura 2. Efeito de diferentes concentrações de extrato de semente de açaí (ESA) (0,3-400 mcg/ml) na proliferação da linhagem A549 de adenocarcinoma de pulmão humano após 48 horas de tratamento. Os dados representam médias  $\pm$  desvio padrão,  $n = 3$ , \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  versus grupo controle (Teste de Tukey).

A Figura 3 mostra os resultados sobre o efeito do ESA na progressão do ciclo celular na linhagem A549 de adenocarcinoma de pulmão humano. Os resultados mostram um aumento do percentual de células na fase G0/G1 e uma diminuição de células nas fases S e G2/M após a incubação com ESA ( $p < 0,05$ ), sendo este efeito dose-dependente. O controle do ciclo celular é um dos outros fatores determinantes nos processos de desenvolvimento de células, diferenciação celular e tumorigênese. As células cancerígenas normalmente perdem a capacidade de regular o ciclo celular e de controlar seu índice de proliferação. Um passo limitante no ciclo celular, que é frequentemente não regulado em células cancerígenas, é a progressão de células pela primeira fase do ciclo (G1) (DIEHL, ET AL., 2003).

### 13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

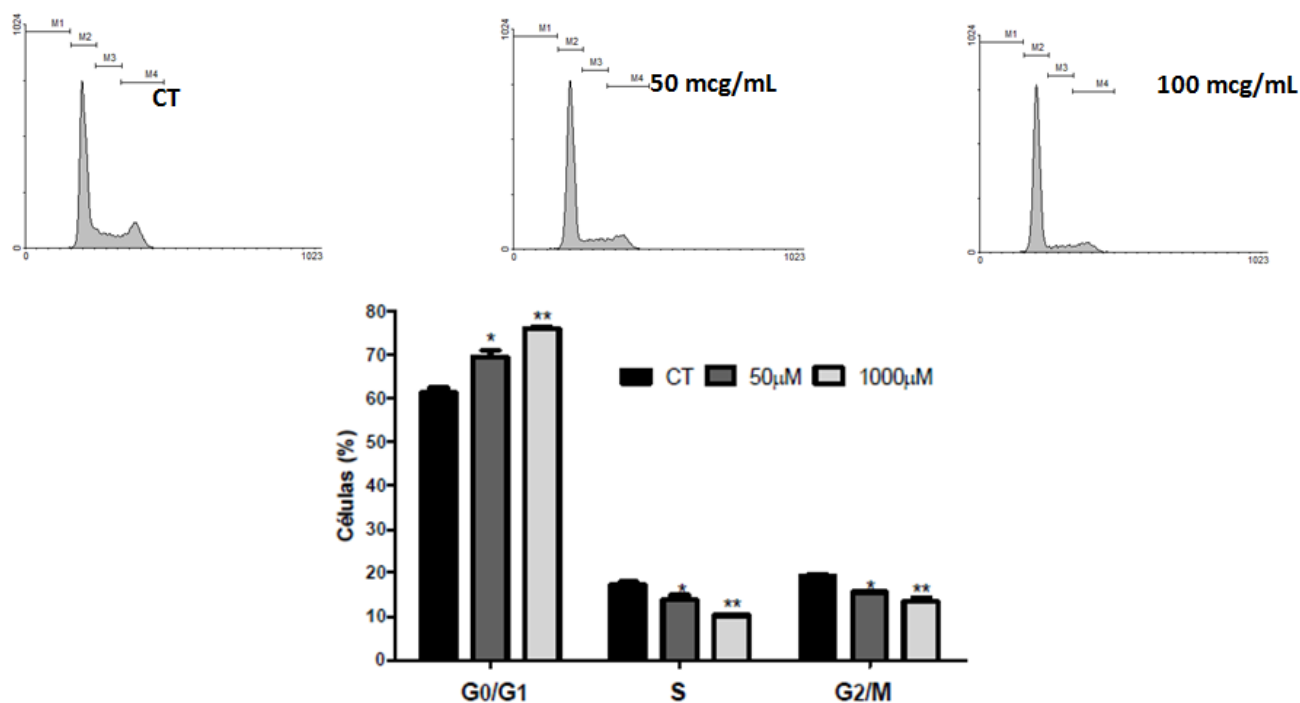


Figura 3. Efeito de diferentes concentrações de extrato de semente de açaí (ESA) (50 e 100mcg/ml) no ciclo celular da linhagem A549 de adenocarcinoma de pulmão humano após 48 horas de tratamento. M1– fase <G1, M2 – G0/G1, M3 - fase S; M4 - Fase G2/M. Os dados representam médias  $\pm$  desvio padrão, n = 3, \*p < 0.05, \*\*p < 0.01 versus grupo controle (Teste de Tukey).

#### CONCLUSÃO

Deste modo, a partir dos resultados obtidos, conclui-se que o extrato de semente de açaí apresentou elevada atividade antioxidante e inibiu a proliferação na linhagem celular de adenocarcinoma de pulmão, com parada no ciclo celular. Neste contexto, a quimioprevenção do extrato de sementes de açaí através da ação da proliferação celular, surge como uma ferramenta importante na prevenção e no controle do câncer.

#### REFERÊNCIAS

- Brasil, Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer- INCA. Estimativa de incidência de câncer no Brasil 2012. Rio de Janeiro: INCA; 2011.
- Diehl JA: Cycling to cancer with cyclin D1. *Cancer Biology Therapy* 2003, 1:226–231.
- Kissmann, G.; Leal, R.K.R.; Franco, C.A.B. Manifestações clínicas do câncer de pulmão. *Pulmão RJ* 2009; Supl 4:S12-S16.
- Lichtenthäler, R.; Belandrino, R.; Maia, J.; Papagiannopoulos, M.; Fabricius, H.; Marx, F. Total antioxidant scavenging capacities of Euterpe oleracea Mart. (açaí) fruits. *International Journal of Food Sciences Nutrition*, v.56, p. 53-64, 2005.
- Rocha, A.P.M.; Carvalho, L.C.R.M.; Sousa, M.A.V.; Madeira, S.V.F.; Sousa, P.J.C.; Tano, T.; Schini-Kerth, V.B.; Resende, A.C.; Soares, R.M. Endothelium-dependent vasodilator effect of Euterpe oleracea Mart. (Açaí) extracts in mesenteric vascular bed of the rat. *Vascular Pharmacology*. 2007. v.46, 97-104p.
- Schauss, A. G.; Wu, X.; Prior, R. L.; Ou, B.; Patel, D.; Huang, D & Kababick, J. P. Phytochemical and nutrient composition of freeze-dried Amazonian palm berry, Euterpe oleracea, Mart. (Açaí). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 54, p. 8598-8603, 2006.
- Singh DK, Lippman SM. Cancer chemoprevention part 1: retinoids and carotenoids and other classic antioxidants. *Oncology* 1998; 12:1643-1660.
- Wogan GN, Hecht SS, Felton JS, Conney AH, Loeb LA. Environmental and chemical carcinogenesis. *Semin Cancer Biol*. 2004;14(6):473–86.
- Zamboni, M. Quadro Clínico, diagnóstico e estadiamento. In: Zamboni, M.;Carvalho, R. W. Câncer de pulmão. São Paulo: Atheneu, p. 9 - 27.2005.