

POTENCIAL ANTICÂNCER DA MACROALGA DA ANTÁRTICA *IRIDEA CORDATA* CONTRA CÉLULAS DE CARCINOMA EPIDERMÓIDE HUMANO

GIULIA MUNHOZ DO SACRAMENTO BOEIRA¹; ROSIANE MASTELARI MARTINS²; RAFAEL GUERRA LUND³, FERNANDA NEDEL³, ADRIANA FERNADES SILVA³, CLAUDIO MARTIN PEREIRA DE PEREIRA⁴

¹Universidade Federal de Pelotas, Graduanda em Farmácia - giulia_boeira@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas, Doutoranda em Biotecnologia

³Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Odontologia

⁴Universidade Federal de Pelotas, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos - claudiochemistry@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Câncer de pele não melanoma é o tumor maligno cutâneo mais freqüentemente diagnosticado (JIANG et al., 2012; PAL et al., 2013), sendo responsável por mais de 90% de todos os casos de câncer de pele (CHOU, LIANG, 2009). Há mais de um milhão de novos casos de câncer de pele não melanoma a cada ano em todo o mundo (JIANG et al., 2012). No Brasil, é o câncer mais frequente e corresponde a cerca de 25% de todos os tumores malignos registrados no país (INCA, 2014).

Embora o câncer de pele apresente altos percentuais de cura e muitas vezes possa ser tratado com cirurgia, quimioterapia ou terapias de radiação; o risco de recorrência e metástases continua sendo uma preocupação (JIANG et al., 2012). Dessa forma, esforços contínuos têm sido feitos para buscar e desenvolver novas abordagens mais eficazes para o tratamento de câncer de pele.

O ambiente marinho tem sido pesquisado focando a descoberta de novos compostos para fins terapêuticos. Entre os organismos marinhos, as macroalgas ocupam um importante lugar como fonte de compostos bioativos. Para sobreviver no ambiente aquático altamente competitivo, as algas têm desenvolvido estratégias de defesa que resultam em uma enorme diversidade de compostos produzidos através de diferentes vias metabólicas (MARINHO-SORIANO et al., 2011). Inúmeras publicações relataram o potencial anticâncer de compostos de origem algal (JAYASOORIYA et al., 2012; LEE et al., 2012; NAMVAR et al., 2013; YANG et al., 2013).

A região Antártica é caracterizada por grandes agregações de macroalgas. O ambiente natural das algas antárticas é caracterizado por condições abióticas extremas, com uma forte sazonalidade de luz e temperaturas baixas constantes (ZACHER et al., 2011). Para sobreviver nas condições ambientais extremas, as algas da Antártica têm desenvolvido estratégias de adaptação que resultam na produção de uma enorme diversidade de compostos que, como demonstrado em inúmeros estudos envolvendo diferentes espécies de algas, podem ser biologicamente ativos e possuir potencial farmacológico e terapêutico. Nesse contexto, o objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial de extratos da macroalga *Iridea cordata*, originária da Antártica, contra células de carcinoma epidermóide humano (A-431).

2. METODOLOGIA

Espécie de Macroalga e Preparação dos Extratos

A espécie estudada foi a macroalga *Iridea cordata*, coletada em fevereiro de 2012, na região da Bahia do Almirantado na Ilha do Rei Geoge, Antártica. A

amostra foi liofilizada e submetida a extrações sucessivas em extrator soxhlet com os solventes hexano, clorofórmio, acetato de etila e etanol. Após 6hr de extração, os solventes foram evaporados em evaporador rotativo a vácuo e, por fim, em fluxo de nitrogênio, originando os extratos brutos.

Avaliação do Potencial Anticâncer

A citotoxicidade dos extratos foi avaliada frente à linhagem celular de carcinoma epidermóide humano (A-431) proveniente do Banco de Células do Rio de Janeiro, através do ensaio colorimétrico de redução do MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazólio). As células foram cultivadas em meio essencial de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) com suplemento de 10% de soro fetal bovino (SFB) e mantidas em garrafas de cultivo celular em estufa a 5% de CO₂ a 37°C.

Para o teste foram utilizadas microplacas de 96 poços. Em cada poço foram adicionadas 2×10^4 células suspensas em 100 µL de DMEM e a placa incubada em estufa a 5% de CO₂ a 37°C, por 24 horas. Posteriormente, as células foram incubadas com 100 µL de diferentes concentrações (62,25 a 500 µg/mL) dos extratos por 24 e 48 horas. Após este período, os produtos foram removidos e, em seguida, 180 µL de DMEM e 20 µL de MTT foram adicionados em cada poço e a placa incubada por mais 3 horas. Passado o período, o meio foi descartado e os cristais de formazan ressuspensos em 200 µl de DMSO. Subsequentemente, os resultados foram lidos em leitor de microplaca (MR-96A, Mindray Shenzhen, China) a um comprimento de onda de 492 nm. Os valores de absorbância foram considerados como indicadores da viabilidade celular e a porcentagem de inibição do crescimento das células determinada através da fórmula: % de inibição = $(1 - \text{Abs}_{492 \text{ células tratadas}} / \text{Abs}_{492 \text{ células controles}}) \times 100$. Os ensaios foram realizados em triplicata e repetidos em tempos diferentes.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato etil acetanólico (AE) de *I. cordata* demonstrou a melhor atividade entre os extratos testados, inibindo a viabilidade celular em 91.1% e 95,6% a uma concentração de 500 µg/mL, após 24 e 48 h de exposição, respectivamente (Figura 1). O aumento do tempo de exposição aos extratos, não resultou em alterações significativas na atividade.

A bioatividade de extratos algais pode ser influenciada pelos protocolos de extração e capacidade extratora dos solventes utilizados, espécie de macroalga, habitat e época do ano de coleta, diferentes estágios de crescimento da alga e métodos experimentais escolhidos (CHRISTOBEL et al., 2011). De acordo com nossos resultados experimentais, acetato de etila produziu melhores resultados que hexano, clorofórmio e etanol. Este resultado pode estar relacionado com a presença de metabolitos bioativos solúveis em acetato de etila, no entanto com pouca ou nenhuma solubilidade nos outros solventes utilizados.

Estudos anteriores avaliaram o potencial anticâncer de diferentes extratos de algas contra vários tipos de linhagens celulares de carcinoma humano, como mama (NAMVAR et al., 2013), fígado (YANG et al., 2013), bexiga (JAYASOORIYA et al., 2012) e pulmão (LEE et al., 2012). No entanto, poucos estudos avaliaram o potencial anticâncer de algas em relação a linhagens celulares de câncer da pele, além disso a maioria dos estudos utilizaram células de melanoma (ROCHA et al., 2007). Atualmente pouca informação foi publicada sobre o potencial de algas no tratamento de câncer de pele não melanoma.

No presente estudo, verificou-se que o AE de *I. cordata* exibiu alta citotoxicidade contra uma linhagem de células de carcinoma epidermóide (A-431) a uma concentração de 500 µg/mL. No entanto, o ensaio de citotoxicidade utilizado no presente estudo, pode apenas fornecer dados preliminares para identificar compostos com potenciais propriedades anticâncer. Além disso, a caracterização química do extrato e a identificação do(s) composto(s) bioativo(s) são necessárias para se compreender a atividade de cada componente individual e a contribuição de cada um na atividade do extrato como um todo.

Estudos de identificação das moléculas serão efetuados mediante a separação em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) e emprego de padrões cromatográficos. As estruturas serão confirmadas posteriormente por Espectrometria de Massas (MS).

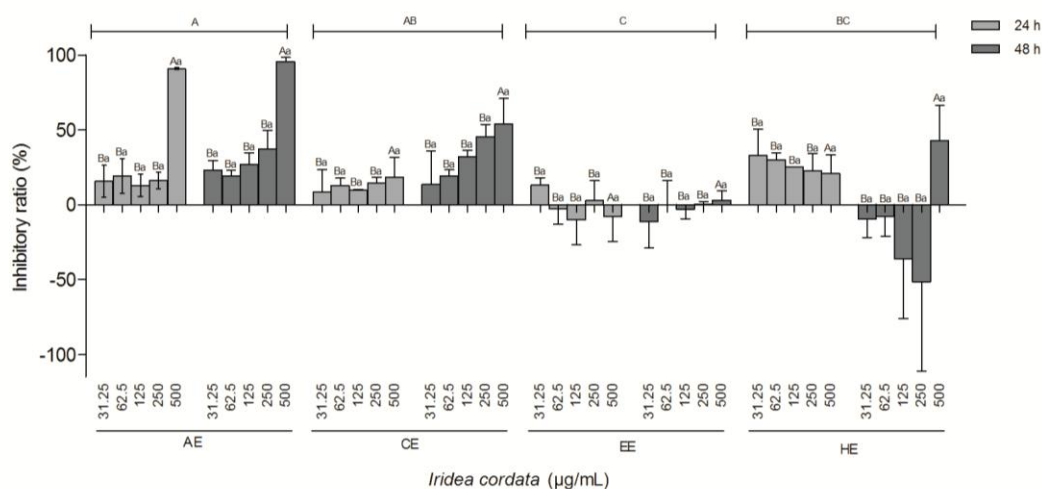


Figura 1 – Efeito de diferentes tipos e concentrações de extratos da macroalga *I. cordata* na inibição da linhagem celular A-431 após 24 e 48h de exposição aos extratos. Letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre as concentrações e letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os tempos de exposição. (—) indica diferença significativa entre os tipos de extratos. p-value < 0.05 foi considerado significativo (Tukey test). HE: Extrato hexânico; CE: Extrato clorofórmico; AE: Extrato etil acetanólico; EE: Extrato etanólico.

4. CONCLUSÕES

Os dados obtidos demonstram o perfil bioativo da macroalga da Antártica *Iridea cordata* contra uma linhagem celular de carcinoma epidermóide humano, indicando que a alga em estudo pode ser promissora para o isolamento de substâncias com importante potencial biológico. Mais pesquisas devem ser realizadas para explorar os compostos bioativos da alga estudada para garantir a sua aplicação bem sucedida como potencial ferramenta terapêutica.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHOU, T.H.; LIANG, C.H. The molecular effects of aloe-emodin (AE)/liposome-AE on human nonmelanoma skin cancer cells and skin permeation. **Chemical Research Toxicology**, v. 22, n. 12, p. 2017-2028, 2009.
- CHRISTOBEL, G.J.; LIPTON, A.P.; AISHWARYA, M.S.; SARIKA, A.R.; UDAYAKUMAR, A. Antibacterial activity of aqueous extract from selected macroalgae of southwest coast of India. **Seaweed Research and Utilization**, v. 33, n.1, p. 67-75, 2011.
- Instituto Nacional do Câncer (INCA). Disponível em <http://www.inca.gov.br/>. Acesso em 13/07/2014.
- JAYASOORIYA, R.G.; CHOI, Y.H.; MOON, S.K.; KIM, W.J.; KIM, G.Y. Methanol extract of *Hydroclathrus clathratus* suppresses matrix metalloproteinase-9 in T24 bladder carcinoma cells by suppressing the NF- κ B and MAPK pathways. **Oncology Reports**, v. 27, n. 2, p. 541-546, 2012.
- JIANG, Z.; CHAI, J.; CHUANG, H.H.; LI, S.; WANG, T.; CHENG, Y.; CHEN, W.; ZHOU, D. Artesunate induces G0/G1 cell cycle arrest and iron-mediated mitochondrial apoptosis in A431 human epidermoid carcinoma cells. **Anticancer Drugs**, v. 23, n.6, p.606-613, 2012.
- LEE, H.; KIM, J.S.; KIM, E. Fucoidan from seaweed *Fucus vesiculosus* inhibits migration and invasion of human lung cancer cell via PI3K-Akt-mTOR pathways. **PLoS One**, v. 7, n.11, e50624, 2012.
- MARINHO-SORIANO, E.; PINTO, E.; YOKOYA, N. S.; COLEPICOLO, P.; TEIXEIRA, V. L.; YONESHIGUE-VALENTIN, Y. Frontiers on algae bioactive compounds. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 21, p. 200-201, 2011.
- NAMVAR, F.; MOHAMAD, R.; BAHARARA, J.; ZAFAR-BALANEJAD, S.; FARGAHI, F.; RAHMAN, H.S. Antioxidant, antiproliferative, and antiangiogenesis effects of polyphenol-rich seaweed (*Sargassum muticum*). **Biomed Research International**, ID 604787, 9 pages, 2013.
- ROCHA, F.D.; SOARES, A.R.; HOUGHTON, P.J.; PEREIRA, R.C.; KAPLAN, M.A.; TEIXEIRA, V.L. Potential cytotoxic activity of some Brazilian seaweeds on human melanoma cells. **Phytotherapy Research**, v. 21, n.2, p.170-5, 2007.
- YANG, L.; WANG, P.; WANG, H.; LI, Q.; TENG, H.; LIU, Z.; YANG, W.; HOU, L.; ZOU, X. Fucoidan Derived from *Undaria pinnatifida* Induces Apoptosis in Human Hepatocellular Carcinoma SMMC-7721 Cells via the ROS-Mediated Mitochondrial Pathway. **Marine Drugs**, v. 11, n.6, p. 1961-1976, 2013.
- ZACHER, K., RAUTENBERGER, R., HANELT, D., WULFF, A., WIENCKE, C. The abiotic environment of polar benthic algae. **Biology of polar benthic algae**, p. 9–22, 2011.