

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM TUCUMÃ (*ASTROCARYUM ACULEATUM*) EM CÉLULAS DO EPITÉLIO PIGMENTAR DA RETINA: UM MODELO EXPERIMENTAL DE DEGENERAÇÃO MACULAR RELACIONADA A IDADE

Beatriz da Silva Rosa Bonadiman, Audrei de Oliveira Alves, Cláudia Maria Osório Chaves, Cláudio do Carmo Chaves, Ivana Beatrice Mânica da Cruz

Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), beadasilvarosa@gmail.com

Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Audrei.alves77@gmail.com

Universidade Nilton Lins, Claudiamachaves@gmail.com

Instituto de Oftalmologia de Manaus (IOM), suporteiom@hotmail.com

Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), ibmcruz@hotmail.com

A mudança no perfil de envelhecimento populacional e o aumento da expectativa de vida encontram-se em fases diferenciadas em diversas regiões do mundo. Todavia, o aumento exponencial na proporção de idosos na população mundial é algo notável¹. Enquanto o número de nascimentos decresce, e a taxa de mortalidade infantil diminui, a presença da medicina preventiva com recursos tecnológicos na área de saúde tem contribuído de forma importante para a longevidade humana^{2,3}.

Apesar do aumento da expectativa de vida ser um aspecto positivo para as sociedades, este fenômeno demográfico também acaba elevando a prevalência de disfunções e morbidades crônicas não-transmissíveis que possuem alto impacto social e nos serviços de saúde do País⁴.

Dentre as doenças que acometemos idosos, destaca-se Degeneração Macular da Retina Dependente da Idade⁵. É a causa mais comum de perda visual severa em idosos nos países em desenvolvimento^{6,7}. Essa doença manifesta-se sob duas formas: forma seca, “sem neovascularização” e a forma exsudativa, “com neovascularização^{7,8}”.

Os sintomas da doença irão decorrer do comprometimento macular. Usualmente os pacientes relatam diminuição da sensibilidade ao contraste, ocorrendo sensação de falta de luz para ler ou escrever, embaçamento ou tonalidade amarelada nas imagens, bem como tem-se diminuição da acuidade visual, percepção de linhas retas como deformadas ou onduladas e mancha sombreada central⁹.

Apesar da etiologia da DMRI ainda não ser completamente esclarecida, estudos sugerem que as reações fotoquímicas originadas no epitélio pigmentar da retina (EPR) tornam as estruturas retinianas extremamente suscetíveis aos danos causados pelo estresse oxidativo, tendo em vista que a retina é um dos tecidos com maior consumo de oxigênio no corpo humano⁷.

Com relação a DMRI, alguns estudos sugerem que a suplementação alimentar com substâncias que possuem capacidades antioxidantes e anti-inflamatória (ex: ácido ascórbico, α -tocoferol e carotenoides) poderiam trazer benefícios, diminuindo a progressão da doença para as formas mais avançadas^{10,11}.

O tucumã (*Astrocaryum aculeatum*), planta nativa da Amazônia Brasileira, é um fruto que apresenta uma gama de compostos bioativos, como vitamina A, ômega 3, 6 e 9, carotenoides (alltrans- β -caroteno, 13-cis- β -caroteno, all-trans- α -caroteno, trans- β -criptoxantina), catequinas, quercetina¹⁰ e, dessa forma, poderiam apresentar efeito potencial benéfico para a saúde humana.

Dessa forma, o objetivo do trabalho foi avaliar o perfil oxidativo e a viabilidade das células do epitélio pigmentar da retina, em um modelo experimental *in vitro* de degeneração macular relacionada à idade (DMRI), utilizando a linhagem celular ARPE-19, tratadas com extrato de tucumã (*Astrocaryum aculeatum*).

Métodos

Este estudo caracteriza-se como uma pesquisa experimental *in vitro*, no qual as células do epitélio pigmentar da retina (linhagem ARPE-19), obtidas da American Type Culture Collection (ATCC), serão cultivadas em estufa de CO₂ à 37°C, com meio de cultura Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino (SFB), 1% de antibiótico penicilina/estreptomicina e antifúngico anfotericina B¹². As células foram tratadas com diferentes concentrações do extrato hidroalcoólico de tucumã por 24 horas.

Após foram realizados os teste do para verificar o perfil oxidativo e a viabilidade por citometria de fluxo (avaliar necrose e apoptose celular) Kit FITC Annexin V e Iodeto de Propídio (PI), conforme (BD Biosciences).

As análises do perfil oxidativo foram: Dicloro (avaliar as espécies reativas de oxigênio)¹³; Superóxido (ânion superóxido na amostra)¹⁴; picogreen (citotoxicidade)¹⁵; e óxido nítrico (presença de nitrito orgânico)¹⁶.

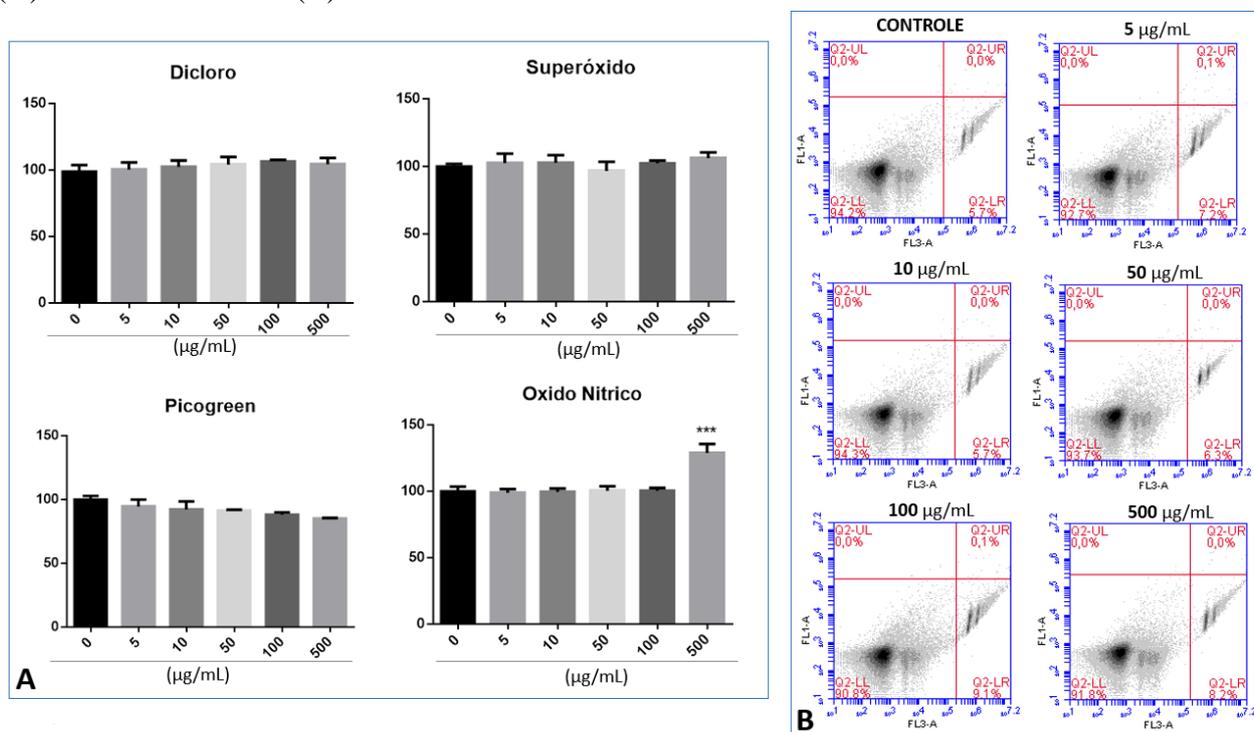
Para análise estatística, foi utilizado o software *Graphpad Prism*, versão 5.0 (Graphpad Prism Software Company, 2014). Os resultados foram comparados pela análise de variância de uma

via seguida pelo teste post hoc de Tukey. Os resultados com $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes

Resultados e Discussão

Foi possível observar que as concentrações do extrato de tucumã (5, 10, 50, 100 e 500 $\mu\text{g/ml}$) não apresentaram danos oxidativos e apoptóticos às células tratadas por 24 horas, exceto a concentração de 500 $\mu\text{g/ml}$ na análise do óxido nítrico (Fig1). Dessa forma, o extrato poderia ser utilizado com um possível coadjuvante ao tratamento da DMRI.

Figura 1: Tratamento com Tucumã em células do Epitélio Pigmentar da Retina, teste oxidativos (A) viabilidade celular (B).



O presente estudo sugere que o tucumã, que é um fruto rico em compostos bioativos como: carotenoides e vitaminas, poderia ter efeitos benéficos na visão de idosos.

Sagrillo et al.¹⁷, investigou o efeito de extratos de tucumã, em linfócitos humanos expostas ao efeito tóxico de peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Em geral, os resultados mostraram um efeito benéfico do extrato de tucumã nos linfócitos expostos a H_2O_2 .

Ainda, SOUZA-FILHO e colaboradores¹⁰, avaliaram o potencial efeito de extratos de tucumã na desnaturação do DNA, uma ação genoprotetiva foi observada. Eles sugerem que os resultados provavelmente estão relacionados ao alto concentração de compostos antioxidantes, principalmente b-caroteno, que é encontrado em frutas de tucumã.

Um estudo translacional descrito por Bonadiman et al.¹⁸ revelou que os idosos ribeirinhos que auto relataram boa qualidade da visão consumiam habitualmente guaraná, quando comparados com os demais indivíduos que não consumiam, Nos testes *in vitro*, o tratamento prévio das células ARPE-19 com guaraná foi capaz de prevenir alguns danos citotóxicos e oxidativos causados pelo Paraquat.

Dessa forma, os resultados encontrados na literatura corroboram com os resultados encontrados nesse trabalhos, sugerindo que alimentos antioxidante, com compostos bioativos, como carotenoides, podem auxiliar na melhora da qualidade visual dos idosos acometidos pela DMRI.

Conclusão

Considerando o aumento da longevidade verificado nas últimas décadas reforça a necessidade de maior atenção à DMRI, uma vez que está representa a principal causa de cegueira em pacientes acima dos 65 anos, com conseqüente impacto na qualidade de vida dos mesmos, podendo levar à depressão em alguns casos.

A partir desses resultados, com protocolo *in vitro* utilizando as células ARPE-19, um modelo experimental para DMRI, é possível inferir que o tucumã não apresenta efeitos citotóxicos as células, mantendo a viabilidade das mesmas, isso se deve as suas propriedades antioxidantes, podendo auxiliar na manutenção das funções oculares, visando oportunizar uma melhora na acuidade visual e na qualidade de vida, beneficiando os indivíduos acometidos pela doença.

Referências

1. Wong R. Carvalho JA. O rápido processo de envelhecimento populacional do Brasil: sérios desafios para as políticas públicas. Revista Brasileira de Estudos de Populações. 2006; v. 23 (01): 5-26.
2. Betioli SE. Cultural practices of health care of the oldest old in the home environment. Dissertation (Master's Degree in Nursing) - Federal University of Paraná, Curitiba, 2012.

3. Kachar V. Envelhecimento e perspectivas de inclusão digital. *Revista Kairós Gerontologia*. 2010; v.13 (02): 131-147.
4. Veras R, et al. Desenvolvimento de uma linha de cuidados para o idoso: hierarquização da atenção baseada na capacidade funcional. *Rev. Bras. Geriatr. Gerontol.* 2013; v.16 (02): 385-392.
5. Klein R, et al. Changes in visual acuity in a population over a 15-year period: the Beaver Dam Eye Study. *Am J Ophthalmol.* 2006; v.142 (01):539- 49.
6. Bahadorani S, Singer M. Recent advances in the management and understanding of macular degeneration. *F1000Research*. 2017; v. 6 (516): 1-7.
7. Datta S, et al. The impact of oxidative stress and inflammation on RPE degeneration in nonneovascular AMD. *Progress in Retin and Eye Research*. 2017; v. 20 (01).
8. Yonekawa Y, Miller JW, Kim IK. Age-Related Macular Degeneration: Advances in Management and Diagnosis. *Journal Clinical Medicine*. 2015; v. 4 (02): 343-59.
9. Bellini LP, Freitas AM. Atualização no diagnóstico e tratamento da degeneração macular relacionada à idade. *Revista da AMRIGS*. 2013. v. 52 (03):204-208.
10. Souza-Filho OC, et al. The In Vitro Genotoxic Effect of Tucuma (*Astrocaryum aculeatum*), an Amazonian Fruit Rich in Carotenoids. *J Med Food*. 2013; v. 16 (11): 1013–1021.
11. García-Montalvo IA, Matías-Pérez D. Componentes nutricionales y degeneración macular relacionada con la edad. *Nutr. Hosp.* 2015; v. 32 (01): 50-54.
12. Peres CM, Curi R. *Como Cultivar Células*. 1 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan. 2005. 283 p.
13. Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British Journal of Pharmacology*. 2004; v. 142 (01): 231–255.

14. Morabito C, et al. Modulation of redox status and calcium handling by extremely low frequency electromagnetic fields in C2C12 muscle cells: A real-time, single-cell approach. *Free Radical Biology Medicine*. 2010; v. 48 (04): 579–589.
15. Há TTN, et al. Elevated Levels of Cell-Free Circulating DNA in Patients with Acute Dengue Virus Infection. *PloS One*. 2011; v.6 (10).
16. Choi WS, et al. The regulatory effect of veratric acid on NO production in LPS-stimulated RAW264.7 macrophage cells. *Cell Immunology*. 2015; v. 280 (02):164-170.
17. Sagrillo M, et al. Tucumã fruit extracts (*Astrocaryum aculeatum* Meyer) decrease cytotoxic effects of hydrogen peroxide on human lymphocytes. *Food Chemistry*. 2015; v. 173 (01): 741–748.
18. Bonadiman BSR, et al. Guarana (*Paullinia cupana*): Cytoprotective effects on age-related eye Dysfunction. *Journal of Functional Foods*. 2017; v. 36 (01): 375–386.