

## LOS LÍPIDOS DEL ACEITE DE CÁSCARA DE MANDARINA INHIBEN LA PROLIFERACIÓN DE CÉLULAS TUMORALES A549 *IN VITRO* E *IN VIVO*

Castro MA<sup>1,3</sup>; Peterson G<sup>1,3</sup>; Massone A<sup>4</sup>; Rodenak Kladniew BE<sup>2,3</sup>; Montero Villegas S<sup>3</sup>; Polo MP<sup>2,3</sup>; García de Bravo MM<sup>2,3</sup>; Crespo R<sup>2,3</sup>.

<sup>1</sup> Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular. <sup>2</sup> Cátedra de Biología.

<sup>3</sup> INIBIOLP "Prof. Dr. Rodolfo R. Brenner" (CONICET- CCT La Plata) Fac. de Ciencias Médicas UNLP. <sup>4</sup> Laboratorio de Patología Especial Veterinaria, Fac. de Ciencias Veterinarias UNLP.

magustinacg@gmail.com

### Introducción

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud la incidencia y la mortalidad producida por distintos tipos de cáncer está aumentando de manera alarmante en las últimas décadas. Particularmente, el cáncer de pulmón causó 1.37 millones de muertes por año en todo el mundo y el subtipo no microcítico representa más del 80% de los cánceres de pulmón recientemente diagnosticados en pacientes en un estadio de la enfermedad avanzado y no resecable. La búsqueda de compuestos naturales como agentes terapéuticos efectivos, así como el interés social por la conservación del medio ambiente están impulsando a la utilización de residuos agroindustriales, entre ellos la cáscara de cítricos, como materia prima de bajo costo para la obtención de compuestos químicos de aplicación tanto sanitaria como industrial. A nivel mundial la producción de cítricos ejerce un gran impacto en el comercio internacional así como en el ingreso económico de varios países, incluido Argentina. De la cáscara de los mismos se obtienen los aceites esenciales, que poseen un amplio espectro de propiedades biológicas (antimicrobiana, antioxidante, antiinflamatoria, etc). El limoneno, el componente mayoritario de los aceites esenciales de naranja, limón, mandarina, lima y pomelo, tiene una actividad quimiopreventiva bien establecida contra varios tipos de cáncer. Por otro lado, los cítricos son una fuente compleja de carotenoides (pigmentos naturales liposolubles), que también se acumulan principalmente en la cáscara, y varios de ellos han demostrado tener actividad anti-cancerígena.

### Objetivos

Evaluar la composición lipídica del aceite de cáscara de mandarina (AM) y estudiar su efecto antiproliferativo y antitumoral utilizando células tumorales provenientes de un adenocarcinoma pulmonar (A549), tanto *in vitro* (cultivos celulares) como *in vivo* (células implantadas en ratones nude).

### Materiales y métodos

La composición lipídica del AM obtenido por prensado en frío se analizó mediante TLC, cromatografía gaseosa (GC) y GC acoplada a espectrometría de masas (GC-MS).

Para los ensayos *in vitro*, se cultivaron células A549 que fueron tratadas con dosis crecientes de AM. La viabilidad y la proliferación celular se evaluaron mediante el test de MTT, la progresión del ciclo celular fue analizada mediante citometría de flujo y la apoptosis fue determinada por el método de TUNEL.

Para los ensayos *in vivo*, se implantaron subcutáneamente células A549 en ratones nude y los tratamientos se iniciaron cuando los tumores alcanzaron un volumen aproximado de 300 mm<sup>3</sup>. Los ratones se alimentaron con una dieta control o experimental (2.1 ó 6.3 µl AM/ratón/día) durante 21 días. El tamaño del tumor y el peso del animal fueron registrados dos veces por semana. Finalizado el tratamiento los ratones fueron sacrificados y se colectaron muestras de tumor, hígado, tejido adiposo, riñón, bazo, intestino delgado y sangre para análisis bioquímicos, histológicos e inmunohistoquímicos (niveles de albúmina y actividad de transaminasas séricas, TUNEL, PCNA)

### Resultados

Se determinó que el AM contiene compuestos volátiles y no volátiles. Más del 90% de la fracción volátil corresponde al limoneno. En la fracción no volátil se encuentran: triglicéridos, carotenoides (libres y esterificados) y fosfolípidos. Los principales ácidos grasos de estos componentes no volátiles fueron: palmítico (16:0), esteárico (18:0), oleico (18:1 n9) y linoleico (18:2 n6).

Los ensayos *in vitro* demostraron que a una concentración de 116 µl/L, el AM inhibe el 50% de la proliferación celular con un arresto del ciclo en la fase G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>. Los ensayos *in vivo* demostraron una reducción significativa en el crecimiento tumoral (49%) cuando se le administró a los animales una dosis de 6.3 µl AM/ratón/día en el alimento. El AM incrementó la apoptosis en células tumorales tanto *in vitro* (9-30%) como *in vivo* (0.5-1.7%). No se observaron cambios significativos en la ingesta de alimento, peso corporal, peso e histología de órganos ni en parámetros bioquímicos séricos de toxicidad hepática en ratones tratados con el AM.

### Conclusiones

En base a estos resultados se demostró que el AM posee un efecto antiproliferativo en células tumorales humanas, sin efecto tóxico en ratones, por lo que podemos concluir que el AM tiene un gran potencial como agente quimiopreventivo y/o quimioterapéutico.