



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA**

**ISA MARIA FERREIRA AZEVEDO**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIPROLIFERATIVO DE LECTINAS DE  
ORGANISMOS MARINHOS FRENTE A CÉLULAS DE CARCINOMA DE  
PULMÃO HUMANO**

**FORTALEZA**

**2025**

ISA MARIA FERREIRA AZEVEDO

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIPROLIFERATIVO DE LECTINAS DE  
ORGANISMOS MARINHOS FRENTE A CÉLULAS DE CARCINOMA DE  
PULMÃO HUMANO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Patologia.

Orientador: Prof. Dr. Edson Holanda Teixeira.

FORTALEZA

2025

ISA MARIA FERREIRA AZEVEDO

AValiação DO POTENCIAL ANTIPROLIFERATIVO DE LECTINAS DE  
ORGANISMOS MARINHOS FRENTE A CÉLULAS DE CARCINOMA DE  
PULMÃO HUMANO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Patologia.

Orientador: Prof. Dr. Edson Holanda Teixeira.

Aprovada em: 13/03/2025.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Edson Holanda Teixeira (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará - UFC

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Renally Barbosa da Silva  
Instituto Federal do Mato Grosso - IFMT

---

Prof. Dr. Luiz Gonzaga do Nascimento Neto  
Instituto Federal do Ceará (IFCE) - *campus* Acaraú

---

Prof. Dr. Rômulo Farias Carneiro  
Universidade Federal do Ceará – UFC

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

A987a Azevedo, Isa Maria Ferreira.

Avaliação do potencial antiproliferativo de lectinas de organismos marinhos frente a células de carcinoma de pulmão humano / Isa Maria Ferreira Azevedo. – 2025.  
77 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Patologia, Fortaleza, 2025.

Orientação: Prof. Dr. Edson Holanda Teixeira.

1. Lectinas. 2. Produtos naturais. 3. Câncer. 4. Rhodophyta. 5. Neoplasias pulmonares. I. Título.  
CDD 571.9

---

A Deus.

Aos meus amados pais, Maria e José Maria.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente à Deus, que vem me sustentado e me dado sabedoria em cada passo até aqui, e que proveu cada etapa necessária para a conclusão deste ciclo.

Aos meus amados pais. Sem o suporte e compreensão de vocês, a caminhada teria sido bem mais difícil. Sem a dedicação de vocês, eu não teria chegado até aqui. Nós conseguimos, mais uma vez!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Edson Teixeira. Obrigada pela orientação, por cada oportunidade a mim concedida, por cada momento de acolhimento nas fases críticas de execução deste trabalho, por buscar maneiras de dar prosseguimento ao meu projeto e me dar autonomia para o desenvolvimento das minhas atividades tanto na pesquisa como na extensão.

A Prof<sup>a</sup> Ma. Aryane Pinheiro, minha mãe científica, amiga e também orientadora. Você não soltou minha mão em nenhum momento, até mesmo quando estávamos em fusos horários diferentes. Você esteve comigo comemorando as vitórias e fazendo o possível para que as coisas voltassem aos trilhos durante os momentos conturbados. Esse trabalho tem muito de você! Obrigada por acreditar e por fazer com que fosse possível.

Aos IC's Tatiane, Sarah, Pedro, Feijó e Caio. Mesmo que alguns já não estejam no cultivo, saibam que vocês também fazem parte disso.

Ao Bio-MarLab pela purificação e fornecimento das lectinas. Aproveito também a oportunidade para agradecer ao prof. Rômulo pelo aceite em participar da banca e pelas contribuições para este trabalho.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Renally Barbosa e ao Prof. Dr. Luiz Gonzaga do Nascimento Neto. Eu não poderia deixar de chamá-los para esse momento. Sendo um trabalho desenvolvido no cultivo, vocês têm parte nisso também. Grata pelas valiosas contribuições na qualificação e agora na defesa.

À Fiocruz Ceará, em especial ao Prof. Dr. Gilvan Furtado, ao Marcus e ao Daniel pela acolhida e todo o suporte nos experimentos de citometria de fluxo.

À minha amiga que está comigo desde o ensino médio e “bióloga de insetos” favorita, Gabriela Xavier. Amiga, sabemos que a distância física entre nós foi aumentada nos últimos

meses, mas você não deixou de ser presente. Sou grata por sua amizade, por cada conversa e momentos de fuga da rotina intensa que é o mestrado.

Às minhas amigas que fiz com a graduação, Mari, Alanna, Reb e Isadora. Obrigada por permanecerem aqui e sempre serem sinônimo de acolhimento e boas risadas. Mesmo que a distância, compartilhar os dilemas da pós com vocês, mesmo que em programas diferentes, sem dúvidas deixaram as coisas mais leves.

Aos demais professores e pós-graduandos que compõem o LIBS, pelas sugestões e apoio ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu amado laboratório de Cultivo de Células, que continua sendo meu lugar favorito dentro da UFC. O lugar onde me proporcionou o primeiro contato com o que era pesquisa ainda quando eu era apenas uma aluna ainda indo para o 3º semestre da graduação. Obrigada também às linhagens que cultivei por terem sobrevivido quando deveriam sobreviver e morrer também quando deveriam (ou quase isso) e se adaptado à minha playlist oficial de montagem de experimentos (só quem está no cultivo sabe qual é).

Ao programa de Pós-graduação em Patologia, em especial a servidora Valéria, que sempre me auxiliou nas partes burocráticas da pós.

A FUNCAP, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa.

“E não somente isto, mas também nos gloriamos nas próprias tribulações, sabendo que a tribulação produz perseverança; e a perseverança, experiência; e a experiência, esperança.” Romanos 5:3,4



## RESUMO

O câncer é um conjunto de mais de cem doenças caracterizadas pelo crescimento descontrolado de células anormais. Sendo um problema de saúde pública global, é a principal causa de morte entre indivíduos com menos de 70 anos. Nesse cenário, câncer de pulmão é o primeiro em incidência e o principal responsável pelas mortes associadas ao câncer. O câncer de pulmão é categorizado em câncer de pequenas células (SCLC) e câncer de células não pequenas (NSCLC) que corresponde à maioria dos casos e é o tipo menos responsivo à quimioterapia. Sob essa perspectiva, a busca por novas alternativas terapêuticas se faz urgente. Os oceanos cobrem grande parte da superfície do planeta Terra e são ricos em biodiversidade, e dada a sua imensidão, são considerados uma fonte ainda pouco explorada de moléculas biologicamente ativas. Nesse sentido, as lectinas de algas marinhas são dotadas de características físico-químicas e biológicas interessantes que as tornam grandes candidatas a agentes fundamentais no diagnóstico e/ou terapia anticâncer. O presente trabalho tem como objetivo avaliar o potencial antiproliferativo *in vitro* de lectinas isoladas de organismos marinhos, bem como seu perfil de citotoxicidade frente a células normais. Para a avaliação da atividade anticâncer e determinação do IC<sub>50</sub> foi utilizado o método colorimétrico MTT. Verificou-se também o efeito das lectinas sobre a morfologia das células, utilizando a coloração de panótico rápido, e também, foi avaliada a interferência sobre a adesão celular. Além disso, avaliou-se a toxicidade *in vivo* utilizando o modelo de *Artemia salina*. Dentre as lectinas estudadas, as extraídas das algas vermelhas *Solieria filiformis* (SfL, IC<sub>50</sub>= 65,6 µg/mL), *Amansia multifida* (AML, IC<sub>50</sub>= 52,4 µg/mL) e *Meristiella echinocarpa* (MEL, IC<sub>50</sub>= 134,8 µg/mL) obtiveram os melhores resultados, mostrando-se mais seletivas para a linhagem tumoral A549 e apresentando toxicidade reduzida para a linhagem de fibroblastos murinos saudáveis L929. Além do efeito citotóxico, as três lectinas também promoveram alterações morfológicas nas células tratadas, bem como interferiram na adesão das células tumorais. O mecanismo de indução de morte celular foi investigado por citometria de fluxo. Também, avaliou-se a atividade de caspases 3/7. Observou-se, por meio da citometria de fluxo, que SfL, AML e MEL induzem apoptose, evidenciada pela dupla marcação com Anexina V e 7-AAD. No entanto, não foi possível constatar se a apoptose foi causada via caspase 3/7. Por fim, na avaliação da toxicidade *in vivo* em de *Artemia salina*, onde 100% dos indivíduos mantiveram-se vivos em todas as concentrações testadas (500µg/mL - 7,8µg/mL). Assim, evidencia-se que as lectinas testadas

possuem efeito antiproliferativo frente a células de carcinoma de pulmão, induzindo morte celular por apoptose.

**Palavras-chave:** Lectinas; Produtos naturais; Câncer; Rhodophyta; neoplasias pulmonares.

## ABSTRACT

Cancer is a group of over one hundred diseases characterized by the uncontrolled growth of abnormal cells. A global public health problem, it is the leading cause of death among individuals under 70. Lung cancer is the most common and the leading cause of cancer-related deaths. Lung cancer is categorized into small cell lung cancer (SCLC) and non-small cell lung cancer (NSCLC), which accounts for the majority of cases and is the type least responsive to chemotherapy. From this perspective, the search for new therapeutic alternatives is urgent. The oceans cover a large part of the Earth's surface and are rich in biodiversity. Given their vastness, they are considered a still largely unexplored source of biologically active molecules. In this sense, marine algae lectins possess interesting physicochemical and biological characteristics that make them prime candidates as key agents in cancer diagnosis and/or therapy. This study aimed to evaluate the in vitro antiproliferative potential of lectins isolated from marine organisms, as well as their cytotoxicity profile against normal cells. The MTT colorimetric method was used to assess anticancer activity and determine the IC<sub>50</sub>. The effect of lectins on cell morphology was also assessed using rapid panoptic staining, and their interference with cell adhesion was also evaluated. Furthermore, in vivo toxicity was evaluated using the *Artemia salina* model. Among the lectins studied, those extracted from the red algae *Solieria filiformis* (SfL, IC<sub>50</sub> = 65.6 µg/mL), *Amansia multifida* (AML, IC<sub>50</sub> = 52.4 µg/mL), and *Meristiella echinocarpa* (MEL, IC<sub>50</sub> = 134.8 µg/mL) obtained the best results, proving to be more selective for the A549 tumor cell line and presenting reduced toxicity for the healthy murine fibroblast cell line L929. In addition to the cytotoxic effect, the three lectins also promoted morphological changes in the treated cells, as well as interfering with tumor cell adhesion. The mechanism of cell death induction was investigated by flow cytometry. Caspase 3/7 activity was also evaluated. Flow cytometry demonstrated that SfL, AML, and MEL induce apoptosis, as evidenced by double labeling with Annexin V and 7-AAD. However, it was not possible to determine whether apoptosis was caused by caspase 3/7. Finally, in the in vivo toxicity evaluation of *Artemia salina*, 100% of individuals remained alive at all concentrations tested (500µg/mL - 7.8µg/mL). Thus, it is evident that the tested lectins have an antiproliferative effect against lung carcinoma cells, inducing cell death by apoptosis.

**Keywords:** Lectins; Natural products; Cancer; Rhodophyta; Lung neoplasms.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Incidência e mortalidade do câncer de pulmão a nível global.....	23
Figura 2 -	Os dez tipos de câncer mais incidentes estimados para o ano de 2023, com exceção do câncer de pele não melanoma.....	24
Figura 3 -	Comparação filogenética das algas marinhas vermelhas <i>Solieria filiformis</i> , <i>Meristiella echinocarpa</i> e <i>Amansia multifida</i> .....	31
Figura 4 -	<i>Solieria filiformis</i> .....	31
Figura 5 -	<i>Amansia multifida</i> .....	32
Figura 6 -	<i>Meristiella echinocarpa</i> .....	33
Figura 7 -	<i>Screening</i> do efeito das lectinas de organismos marinhos frente a A549 e L929.....	41
Figura 8 -	Atividade de SfL, AML e MEL sobre a linhagem A549 ao longo dos tempos testados.....	43
Figura 9 -	Efeito das lectinas na morfologia de A549.....	50
Figura 10 -	Efeito das lectinas na morfologia de L929.....	51
Figura 11 -	Adesão de A549 frente às lectinas testadas.....	53
Figura 12 -	Porcentagem de náuplios vivos após 24 horas de tratamento.....	64
Figura 13 -	Morfologia de <i>Artemia salina</i> após 24 horas de tratamento.....	65

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Efeito de SfL sobre a viabilidade de A549.....	44
Gráfico 2 -	Efeito de AML sobre a viabilidade de A549.....	45
Gráfico 3 -	Efeito de MEL sobre a viabilidade de A549.....	47
Gráfico 4 -	Efeito de ConA sobre a viabilidade da linhagem A549 (48 h)..	49
Gráfico 5 -	Indução de apoptose por SfL.....	55
Gráfico 6 -	Indução de apoptose por AML.....	55
Gráfico 7 -	Indução de apoptose por MEL.....	56
Gráfico 8 -	Viabilidade de A549 frente a SfL.....	58
Gráfico 9 -	Viabilidade de A549 frente a AML.....	58
Gráfico 10 -	Viabilidade de A549 frente a MEL.....	59
Gráfico 11 -	Efeito citotóxico de SfL frente a A549.....	60
Gráfico 12 -	Efeito citotóxico de AML frente a A549.....	60
Gráfico 13 -	Efeito citotóxico de MEL frente a A549.....	61
Gráfico 14 -	Ativação das caspases 3/7 por SfL.....	61
Gráfico 15 -	Ativação das caspases 3/7 por AML.....	62
Gráfico 16 -	Ativação das caspases 3/7 por MEL.....	62

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Efeito de SfL frente a A549 (48h).....	45
Tabela 2 -	Efeito de AML frente a A549 (48h).....	46
Tabela 3 -	Efeito de MEL frente a A549 (48h).....	47
Tabela 4 -	Efeito da lectina ConA sobre a viabilidade da linhagem A549 (48 h).....	49

## **LISTA DE QUADROS**

Quadro 1 -	Lista de espécies das lectinas estudadas com especificações.....	35
------------	--	----

## LISTA DE SIGLAS

AML	Lectina de <i>Amansia multifida</i>
BRCA	<i>Breast Cancer Gene</i>
DMEM	Meio Eagle Modificado de Dulbecco
EGFR	Receptor do fator de crescimento epidérmico
IARC	Agência Internacional de Pesquisa em Câncer
INCA	Instituto Nacional do Câncer
JAK/STAT3	Via de sinalização Janus kinase/Signal transducer
MEL	Lectina de <i>Meristiella echinocarpa</i>
NSCLC	Câncer de pulmão não pequenas células
OPAS	Organização Pan Americana de Saúde
PBS	Tampão fosfato salino
SCLC	Câncer de pulmão de pequenas células
SFB	Soro Fetal Bovino
SfL	Lectina de <i>Solieria filiformis</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
TRPM2	Canal catiônico potencial do receptor transitório, subfamília M, membro 2



## LISTA DE SÍMBOLOS

US\$	Dólar americano
g	Grama
±	Mais ou menos
<	Menor que
μ	Micro
mL	Mililitro
™	Marca comercial
®	Marca registrada
%	Porcentagem
R\$	Real

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>19</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>21</b>
2.1 O câncer .....	21
2.2 O câncer de pulmão .....	23
2.3 Produtos naturais com ação anticâncer .....	25
2.4 Lectinas de organismos marinhos e sua aplicação biotecnológica .....	28
2.5 Filo Rhodophyta e atividade anticâncer .....	29
2.6 Lectinas das algas marinhas <i>Solieria filiformis</i> , <i>Amansia multifida</i> E <i>Meristiella echinocarpa</i> .....	30
2.6.1 <i>Solieria filiformis</i> .....	31
2.6.2 <i>Amansia multifida</i> .....	32
2.6.3 <i>Meristiella echinocarpa</i> .....	32
<b>3 OBJETIVOS .....</b>	<b>34</b>
3.1 Objetivo geral.....	34
3.2 Objetivos específicos .....	34
<b>4 METODOLOGIA.....</b>	<b>35</b>
4.1 Isolamento e purificação das lectinas .....	35
4.2 Linhagens celulares e condições de cultivo .....	35
4.3 Avaliação da viabilidade celular por MTT.....	36
4.4 Avaliação da morfologia (panótico rápido) .....	37
4.5 Interferência das lectinas na adesão celular .....	37
4.6 Avaliação de morte celular induzida por SfL, AML e MEL (citometria de fluxo) .....	37
4.7 Avaliação da viabilidade, citotoxicidade e ativação de caspases 3/7 .....	38
4.8 Toxicidade <i>in vivo</i> ( <i>Artemia salina</i> ).....	38
4.9 Análise estatística .....	39
<b>5 RESULTADOS DISCUSSÃO .....</b>	<b>40</b>
5.1 Avaliação da viabilidade celular .....	40
5.2 Avaliação de morfologia (Panótico) .....	50
5.3 SfL, AML E MEL interferem na adesão celular .....	52
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>66</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>67</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer pode ser definido como um conjunto de mais de cem doenças que têm como características o crescimento desordenado de células e a capacidade de invadir tecidos adjacentes (INCA, 2022b; Kumar, 2018). As células cancerosas são dotadas de outras características complexas que lhes conferem malignidade, como a evasão de mecanismos de controle de crescimento, resistência a apoptose, a presença de glicosilações aberrantes, metástase e angiogênese (Hanahan, 2022; Munkley; Elliott, 2016). Estudiosos colocam que uma em cada cinco pessoas poderão ter câncer durante a vida (Ferlay *et al.*, 2021; Sung *et al.*, 2021).

Sendo um problema de saúde pública global, é o segundo maior causador de mortalidade e morbidade de indivíduos abaixo dos 70 anos, ficando atrás, apenas, das doenças cardiovasculares (OPAS, 2020). A incidência e mortalidade pela doença, além de fatores genéticos e ambientais, é também, um reflexo do envelhecimento da população (Sung *et al.*, 2021). Estima-se que no mundo, 20 milhões de novos casos de câncer foram diagnosticados no ano de 2022, e para o ano de 2050, a previsão é de 35 milhões de novos casos da doença. O câncer de pulmão segue sendo o câncer mais incidente no mundo (12,4%), seguido dos cânceres de mama feminina (11,6%), colorretal (9,6%) e de próstata (7,3%) (Bray *et al.*, 2024).

Nesse contexto, os principais tratamentos para o câncer são cirurgias, uso de quimioterapia, radioterapia e imunoterapias (Huang *et al.*, 2021). Apesar dessas tecnologias existentes, os tratamentos possuem limitações, como a baixa seletividade aos tumores, efeitos colaterais, e a resistência aos medicamentos (Aung *et al.*, 2017). Além disso, o tratamento cirúrgico, por muitas vezes é mutilador, como nos casos de cânceres de mama e oral. Essa situação acaba por afetar também a saúde psicológica e os papéis sociais dos pacientes oncológicos (Carneiro *et al.*, 2020; Fernandes *et al.*, 2021; Koch *et al.*, 2024).

Com a pandemia de COVID-19, as taxas de incidência do câncer entraram em queda, dada a redução nos atendimentos médicos e procedimentos diagnósticos, influenciando diretamente na subnotificação dos casos. Estima-se que no ano de 2020, no território brasileiro ao menos 15 mil casos de câncer ficaram sem diagnóstico a cada mês. Os dados mais alarmantes são da região nordeste do país, onde a redução nos diagnósticos foi de mais de 40% a cada mês (Marques *et al.*, 2021).

Vale ressaltar que o câncer também gera impactos no cenário econômico de várias maneiras, seja na redução da produtividade da população, ou no investimento em diagnóstico

e tratamento. Os gastos mundiais com medicamentos contra o câncer aumentaram para US\$223 bilhões em 2023 e devem chegar a US\$409 bilhões até 2028 (IQVIA, 2024). Tendo uma visão geral, no período de 2020 a 2050, estima-se que o ônus financeiro global relacionado aos cânceres, será de 25,2 trilhões de dólares (Chen *et al.*, 2023).

No cenário nacional, no ano de 2022, os tratamentos oncológicos custaram ao Sistema Único de Saúde (SUS) R\$3,9 bilhões. Aproximadamente 77% desses gastos, cerca de 3 bilhões de reais, estão relacionados a tratamentos ambulatoriais (quimioterapia, radioterapia e hormonioterapia). Outros procedimentos, como cirurgias e internações, representaram 23% desses gastos, somando quase 900 milhões de reais (Simão, 2024). Este cenário denota a urgência da busca de novas alternativas diagnósticas e terapêuticas contra o câncer.

A utilização de produtos naturais emerge como uma alternativa promissora para o tratamento de neoplasias malignas, haja vista o menor índice de efeitos colaterais, menor custo, e a menor possibilidade de resistência aos tratamentos (Ciftci *et al.*, 2020; Fonseca *et al.*, 2022; Talib *et al.*, 2021). Tendo isso em vista, considerando que o desenvolvimento de mutações celulares é uma estratégia de sobrevivência das células cancerosas, vale ressaltar que a resistência aos quimioterápicos é associada de forma direta ou indireta a cerca de 90% dos óbitos de pacientes oncológicos, sendo um grande desafio para a comunidade médica e pacientes (Si *et al.*, 2019).

Nessa perspectiva, os oceanos cobrem 71% da superfície da Terra, correspondem a 91% da biosfera do planeta, são ricos em biodiversidade e desempenham papel essencial para a saúde do planeta e dos seres humanos (Cario; Oliver, Rogers, 2019; Fauville *et al.*, 2019). Por sua grandiosidade, representam uma fonte ainda pouco explorada, sendo um ambiente que apresenta grande potencial para a obtenção de novas biomoléculas com potencial farmacológico (Ciftci *et al.*, 2020; Han *et al.*, 2019).

Muitos organismos marinhos como os pertencentes aos filos Porifera, Mollusca, e Rhodophyta, já são descritos como fonte de moléculas biologicamente ativas. Algumas das aplicações já descritas para estes e outros organismos são atividade antibacteriana (Swarna *et al.*, 2021), pró-cicatrizante (Premarathna *et al.*, 2021), antioxidante (Hapsari; Yasman, 2019) e efeito anticâncer (Hung, Trinh, 2021).

Dentre esses compostos, existem as lectinas, que são proteínas com capacidade de ligação específica e reversível a carboidratos e podem ser encontradas em vegetais, microrganismos e animais vertebrados e invertebrados (Ahmmed *et al.*, 2022). As lectinas de organismos marinhos possuem propriedade anticâncer descrita em modelos

experimentais *in vitro* e *in vivo*, evitando o crescimento tumoral, bem como levando à morte por apoptose ou outras vias de morte (Catanzaro *et al.*, 2019).

Nesse cenário, as lectinas podem ser encontradas em vários organismos e são compostos naturais promissores para o tratamento de neoplasias, tendo em vista sua especificidade por açúcares (Bektas; Kaptan, 2023). Assim como os glicanos, essas proteínas são onipresentes na natureza e fazem parte de muitos processos biológicos, e desde sua descoberta têm sido bastante estudadas na área médica. Tendo em vista que os cânceres apresentam padrões aberrantes de glicosilação que favorecem a prevalência dos tumores, as lectinas possuem grande potencial para o tratamento de neoplasias, visto sua capacidade de identificação desses padrões de glicosilação anormais (Fontenelle *et al.*, 2018).

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 O câncer**

A cada ano, são diagnosticados cerca de 24 milhões de novos casos de câncer em todo o mundo, levando mais de 10 milhões de pessoas a óbito (Andrade, 2023). Para cada 10 pessoas que morrem prematuramente de doenças não transmissíveis, quatro morrem de doenças cardiovasculares e três de câncer. Estima-se que ao longo deste século, a mortalidade por câncer pode ultrapassar as doenças cardiovasculares, além de gerar uma sobrecarga aos sistemas de saúde em relação aos cuidados relacionados ao câncer (Bray *et al.*, 2021; Bray *et al.*, 2024). Ressalta-se que em países com alto IDH (Índice de desenvolvimento humano), foi observada ao longo dos últimos anos uma diminuição nas taxas de incidência e mortalidade pela doença, por conta das estratégias para prevenção, diagnóstico precoce e tratamento. Entretanto, nos países em transição, essas taxas seguem estáveis ou em crescimento (Santos *et al.*, 2023).

Cerca de 50% dos casos de câncer são detectados em indivíduos a partir dos 65 anos e geralmente, o diagnóstico de pessoas nessa faixa etária costuma ser tardio, o que contribui para o insucesso dos tratamentos. Assim, ressalta-se que a idade é um fator de risco para o câncer (Van Herck *et al.*, 2021). Além da idade, incluem-se também como fatores de risco a obesidade, dieta, sedentarismo, exposição à radiação, tabagismo e o consumo de álcool. Ademais, fatores genéticos como mutações nos genes BRCA 1 e 2, que acabam por deixar os pacientes mais suscetíveis a formas graves de cânceres de mama, ovários, pâncreas e esôfago e indivíduos portadores da Síndrome de Li-Fraumeni, devido a mutações no gene

TP53 que também é um grande fator de risco para o surgimento de diversos tipos de tumores (Garutti *et al.*, 2023; Schneider *et al.*, 2024).

Para o Brasil, é estimado que para o período de 2023 a 2025 ocorram 704 mil novos casos de câncer, incluindo o câncer de pele não melanoma. Ressalta-se que 70% desses novos casos, são previstos para a região Sudeste. Dentre os cânceres mais diagnosticados em território nacional, excluindo o câncer de pele não melanoma, estão o de mama feminina (10,5%), próstata (10,2%), cólon e reto (6,5%), pulmão (4,6%) e estômago, representando 3,1% dos casos. Voltando os olhos para a região Nordeste do país, os cânceres de próstata (73,2/100 mil), seguido do câncer de mama feminino (52,2/100 mil) e de colo uterino (17,5/100 mil) são os mais incidentes (INCA, 2022a).

Nesse sentido, o processo de formação dos cânceres é chamado de carcinogênese, que geralmente ocorre de forma lenta, podendo levar até mesmo anos para que de fato uma célula se multiplique a ponto de se tornar um tumor. A carcinogênese é dividida em três estágios, o primeiro, chamado de iniciação, onde as células sofrem ação de agentes cancerígenos. Em seguida, se tem o estágio de promoção, onde as células passam pela ação de oncopromotores. É nesse estágio que as células já iniciadas podem de fato se tornarem malignas dado o contato constante com os oncopromotores. Por fim, o estágio da progressão que é caracterizado pela multiplicação desordenada dessas células geneticamente alteradas (INCA, 2022c).

O microambiente tumoral configura um ecossistema muito complexo, que é essencial para a carcinogênese. Sendo composto por células estromais, citocinas e fatores de crescimento, rede vascular, macrófagos e fibroblastos associados a tumores, o microambiente tumoral regula muitas características do câncer como a angiogênese, imunossupressão e inflamação. Ademais, dada sua composição heterogênea, o microambiente tumoral também contribui para processos como a invasão e a metástase (Yang *et al.*, 2021).

Além disso, o câncer também tem como característica a expressão de glicosilações aberrantes, que são um fator importante para o desenvolvimento dos tumores. Alterações na composição dos glicanos auxiliam em diversas etapas da progressão tumoral, pois influenciam na proliferação, na resistência à morte celular, angiogênese, adesão celular, instabilidade genômica e metástase (Munkley; Elliott, 2016).

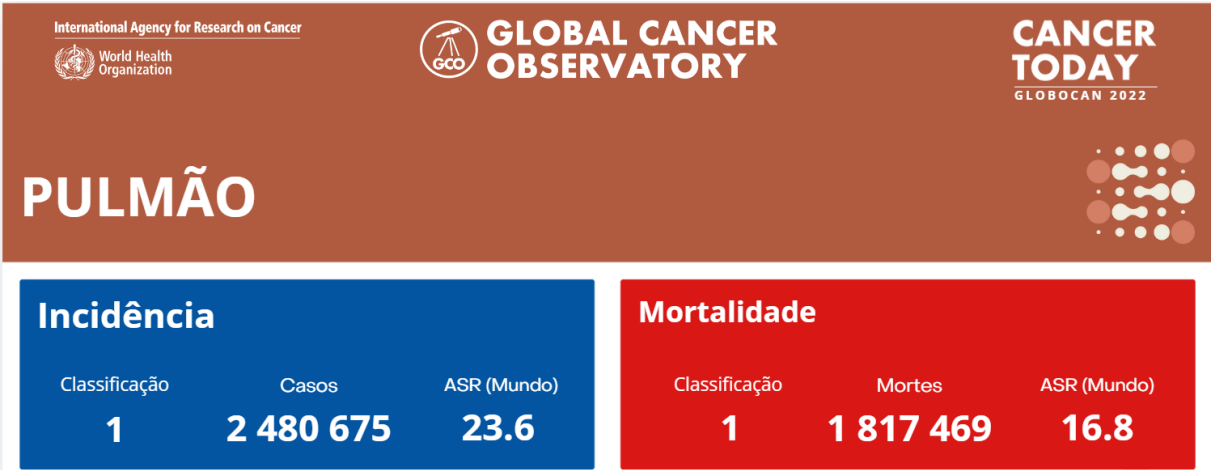
Sabe-se que padrões de glicosilação anormais como a N-glicosilação (*high mannose*), O-glicosilação (antígeno Tn), são expressos de forma frequente na superfície de células de cânceres de pulmão, mama, bexiga, dentre outros. Isso faz com que sejam alvos promissores das terapias atualmente desenvolvidas. Ademais, as lectinas possuem especificidade fina

diversa, com sítios de ligação que podem reconhecer açúcares simples e complexos como galactose, ácido siálico e manose (Neis, 2024). Diante disso, dada a heterogeneidade do câncer, se faz necessário o estudo e a busca acerca de alternativas terapêuticas que atuem de forma mais assertiva frente aos principais mecanismos da doença.

2.2 O câncer de pulmão

Mundialmente, o câncer de pulmão é a principal causa de morte por câncer (Figura 1), sendo que a incidência e mortalidade por esse tipo de neoplasia é duas vezes maior em homens do que em mulheres (WHO, 2022). Geralmente, é diagnosticado depois dos 50 anos (90% dos casos), especialmente entre os 60 e 70 anos (AC. CAMARGO, 2024). A doença possui alguns fatores de risco como o tabagismo, a poluição do ar e a hereditariedade, entretanto, o tabagismo se destaca. A poluição do ar é relacionada a apenas 5% das mortes relacionadas às neoplasias pulmonares (Chen *et al.*, 2022).

Figura 1 - Incidência e mortalidade do câncer de pulmão a nível global



Fonte: WHO, 2022 (traduzido).

O fumo é considerado um agente carcinogênico completo, haja vista possui componentes que interferem nos três estágios da formação do câncer (INCA, 2022c). Vale ressaltar que tabagismo é um fator de risco importante para o desenvolvimento da doença, sendo associado a 85% dos casos no Brasil (INCA, 2022a). Efeitos como a indução da angiogênese, a proliferação celular aumentada e a resistência a apoptose já são descritas na literatura como associados de forma direta à exposição à nicotina (Talib; Al Kury, 2018). Ademais, em países emergentes, os índices de incidência e mortalidade pela doença, estão relacionados ao desenvolvimento econômico (Leiter; Veluswamy; Wisnivesy, 2023). No

mundo, estima-se que todos os anos mais de 2 milhões de pessoas sejam diagnosticadas com câncer de pulmão (Chen, *et al.*, 2022).

No Brasil, o câncer de pulmão é o terceiro câncer mais frequente em homens e o quarto em mulheres (Figura 2). O número estimado de casos novos de câncer de traqueia, brônquios e pulmão em território nacional para cada ano do triênio de 2023 a 2025, é de 32.560. Nacionalmente, 70% dos casos de câncer de pulmão são diagnosticados em estágio avançado ou em metástase (Mathias *et al.*, 2020).

Figura 2 - Os dez tipos de câncer mais incidentes estimados para o ano de 2023, com exceção do câncer de pele não melanoma

Localização Primária	Casos	%			Localização Primária	Casos	%
Próstata	71.730	30,0%	Homens	Mulheres	Mama feminina	73.610	30,1%
Cólon e reto	21.970	9,2%			Cólon e reto	23.660	9,7%
Traqueia, brônquio e pulmão	18.020	7,5%			Colo do útero	17.010	7,0%
Estômago	13.340	5,6%			Traqueia, brônquio e pulmão	14.540	6,0%
Cavidade oral	10.900	4,6%			Glândula tireoide	14.160	5,8%
Esôfago	8.200	3,4%			Estômago	8.140	3,3%
Bexiga	7.870	3,3%			Corpo do útero	7.840	3,2%
Laringe	6.570	2,7%			Ovário	7.310	3,0%
Linfoma não Hodgkin	6.420	2,7%			Pâncreas	5.690	2,3%
Fígado	6.390	2,7%			Linfoma não Hodgkin	5.620	2,3%

\*Números arredondados para múltiplos de 10.

Fonte: INCA, 2022a.

Por manifestar sintomas inespecíficos, as neoplasias malignas de pulmão geralmente são diagnosticadas de forma tardia, dificultando ou inviabilizando o tratamento (Almeida, 2021). O diagnóstico precoce também segue sendo um desafio, pois a maioria das técnicas disponíveis atualmente, no caso das mais utilizadas, sendo a broncoscopia e biópsia, muitas vezes conseguem só detectar a doença em estágio avançado, e ainda podem trazer complicações para os pacientes (Nooreldeen; Bach, 2021). Diante disso, vale ressaltar que durante a pandemia de COVID-19, no Brasil, os números de exames diagnósticos como broncoscopias e biópsias pulmonares realizadas no Sistema Único de Saúde (SUS) no período entre março e maio de 2020 diminuíram drasticamente (35% e 13%, respectivamente), quando comparados com o mesmo período do ano de 2019 (Caminha *et al.*, 2022).

Sob esse viés, o câncer de pulmão é categorizado em câncer de pequenas células (SCLC) e câncer de não pequenas células (NSCLC), que corresponde a mais de 80% dos casos (Ganti *et al.*, 2021). Dentro do NSCLC, o tipo histológico mais comum é o adenocarcinoma, correspondendo a mais de 40% dos casos (Leiter; Veluswamy; Wisnivesy, 2023). Cerca de 40% dos pacientes com NSCLC são diagnosticados já em metástase e



mesmo com os avanços nos tratamentos, a sobrevida de cinco anos de pacientes com NSCLC é de cerca de 20 a 30%.

Ressalta-se que a quimioterapia é o tratamento padrão para pacientes com NSCLC, porém, é o menos responsivo ao tratamento. Devido a alta complexidade desse tipo de neoplasia, a quimiorresistência é um problema constante, haja vista os diversos mecanismos do microambiente tumoral, como a rápida reparação do DNA e a reprogramação metabólica (Cincin *et al.*, 2015; Min; Lee, 2021).

Além de tudo, neoplasias pulmonares também geram grandes encargos financeiros. Os cinco cânceres com os maiores custos econômicos são câncer de traqueia, brônquios e pulmão (15,4%) equivalente a US\$ 3,5 trilhões, seguido dos de cólon e reto (10,9%), mama (7,7%), fígado (6,5%) e leucemia (6,3%) (Chen *et al.*, 2023). Esse cenário denota a importância da busca de estratégias terapêuticas mais eficazes, visando o bem estar dos pacientes, bem como a redução dos custos para tratamentos.

### **2.3 Produtos naturais com ação anticâncer**

Os produtos naturais têm desempenhado papel crucial no tratamento de diversas doenças, dada sua diversidade química, estrutural e biológica (Huang *et al.*, 2021). Estima-se que do ano de 1981 até 2019, cerca de 64,9% dos quimioterápicos estudados foram derivados ou inspirados de fontes naturais, sejam elas plantas, organismos marinhos, entre outras, sendo todas drogas mais seletivas, que agem sobre proteínas e outros componentes celulares importantes para a prevalência dos tumores (Newman; Cragg, 2020). Esses produtos naturais podem ser utilizados de forma isolada ou em combinação com outros quimioterápicos como a cisplatina, paclitaxel e a doxorrubicina, o que se torna uma estratégia vantajosa, haja vista que a terapia combinada pode reduzir a toxicidade dos medicamentos de referência, potencializar a atividade farmacológica em doses menores, além de atuarem como adjuvantes no combate a quimiorresistência (Naeem *et al.*, 2022).

Uma das fontes mais importantes na busca de moléculas biologicamente ativas é o Reino Plantae, de onde se pode obter uma grande variedade de fitoquímicos com potencial terapêutico, como óleos essenciais, terpenos e alcaloides (Naeem *et al.*, 2022). Nesse contexto, a cisplatina quando combinada com a neferina, um alcaloide oriundo das sementes de *Nelumbo nucifera*, teve sua atividade anticâncer potencializada frente a células da linhagem A549 (carcinoma de pulmão), parando o ciclo celular na fase G1 e regulando positivamente os níveis de Bax e p53 (Sivalingam *et al.*, 2017). Já a doxorrubicina, em combinação com a curcumina,

teve sua atividade anticâncer intensificada frente a linhagem SH-SY5Y (neuroblastoma), suprimindo a migração celular, induzindo a apoptose por meio da regulação do p53 (Namkaew *et al.*, 2018).

O paclitaxel, conhecido comercialmente como Taxol®, por sua vez, já se trata de um quimioterápico oriundo de fontes naturais. Sendo um diterpeno originalmente obtido da casca de *Taxus brevifolia*, uma gimnosperma nativa da América do Norte, foi isolado pela primeira vez na década de 60, porém, sua estrutura só foi elucidada em meados dos anos 70. O mecanismo de ação desse terpenóide foi relatado já no ano de 1979, onde descobriu-se que o paclitaxel atua ligando-se aos microtúbulos, interferindo no processo de mitose. Os ensaios clínicos do fármaco iniciaram em 1984, e somente em 1992, a *Food and Drug Administration* permitiu seu uso para tratamento de câncer de ovário. Ao longo do tempo, foram desenvolvidas novas formulações a base de paclitaxel, sendo até hoje utilizadas como tratamento para diversos tipos de cânceres, como o carcinoma de pulmão de não pequenas células (NSCLC), mama, ovários e pâncreas (Gallego-Jara *et al.*, 2020; Huang; Lu; Ding, 2021).

É relatado na literatura que o paclitaxel, quando combinado com o resveratrol, produz efeito sinérgico por meio do estímulo ao canal TRPM2 da linhagem celular DBTRG (glioblastoma), resultando em estresse oxidativo e na apoptose (Öztürk *et al.*, 2019). Em linhagens de tumores ovarianos o paclitaxel, quando utilizado juntamente com a tectorigenina, um flavonoide, sensibiliza essas células ao fármaco ao ativar as caspases 6, 8 e 9 (Yang *et al.*, 2012). Além disso, quando em combinação com a criptotanshinona, um terpeno isolado das raízes de *Salvia miltiorrhiza*, inibiu de forma mais potente a migração de células de carcinoma escamoso de língua (CAL-27 e SCC), além de induzir a apoptose por inibir a via de sinalização JAK/STAT3 (Wang *et al.*, 2017).

Ainda em relação às aplicações de componentes isolados de plantas terrestres, Liu e colaboradores (2020), descreveram a atividade indutora de apoptose um diterpeno isolado *Casearia graveolens*, uma planta nativa da Ásia. O composto demonstrou ser citotóxico para a linhagem celular A549, interferindo no seu ciclo celular. Já a hesperidina, um flavonoide presente em frutas cítricas, foi citotóxico para as linhagens pulmonares de A549 e NCI-H358, reduzindo a proliferação celular e induzindo o aumento da caspase 3, uma protease importante para o processo de apoptose (Cincin *et al.*, 2015). O óleo essencial de *Artemisia vulgaris* induziu apoptose em células HL-60 (células leucêmicas), estimulando a liberação do citocromo C, etapa crucial para o desenvolvimento do processo apoptótico (Saleh *et al.*, 2014).

Paralelo a isso, muitos compostos isolados de organismos marinhos possuem atividades citotóxicas e anticâncer já descritas na literatura. Essas propriedades são atribuídas ao fato de que esses organismos passaram por um longo período evolutivo que possibilitou a produção de moléculas com características funcionais e estruturais únicas, suas funções ecológicas e a capacidade de defesa no ambiente em que vivem. Os produtos oriundos de organismos marinhos possuem características estruturais que facilitam a ligações com sítios ativos, os conferindo especificidade (Barreca *et al.*, 2020).

É importante ressaltar que até 2020, mais de 36 mil compostos foram extraídos de macro e microrganismos marinhos, incluindo bactérias, fungos, corais, tunicados, algas e vários outros (Barreca *et al.*, 2020). Ademais, só em 2017, a *Food And Drug Administration* aprovou sete medicamentos oriundos de organismos marinhos com atividade anticâncer e outros compostos estão em fase de ensaios clínicos. Dados como esse demonstram o grande potencial farmacológico dos organismos marinhos (Catanzaro *et al.*, 2019). Já em 2022, haviam dezessete medicamentos oriundos de organismos marinhos já aprovados para a fase clínica, onde 71% deles, eram direcionados para tratamento de diversos tipos de câncer (Dyshlovoy; Honecker, 2022).

Um marco histórico no desenvolvimento de fármacos oriundos de organismos marinhos ocorreu nos anos 50 com o isolamento de dois componentes da esponja *Tethya crypta* (hoje denominada *Cryptotethya crypta*), a espongouridina e a espongotimidina, que foram base para o primeiro antiviral adenina-arabinosídeo (ara-A). Atualmente, existem fármacos para o tratamento de cânceres inspirados nos componentes extraídos dessa esponja, sendo um deles a Citarabina, utilizada no tratamento de leucemias (Varijakzhan *et al.*, 2021). Outro membro do filo Porifera que apresenta resultados animadores para a terapia anticâncer é a *Spirastrella pachyspira*, cujo os extratos foram capazes de inibir o crescimento de células de câncer de mama HER-2 positivo (linhagem SB-BR3). Dentre as quatro formulações testadas, o extrato preparado com acetato de etila obteve IC<sub>50</sub> de 0,04 µg/ml, tendo efeito comparável a doxorubicina (Moraes *et al.*, 2022).

As algas marinhas, sejam elas verdes, marrons ou vermelhas, também são ricas fontes de moléculas biologicamente ativas. Mofeed e colaboradores (2021) realizaram um *screening* com extratos das macroalgas verdes *Ulva lactuca*, *Ulva fasciata*, das algas vermelhas *Corallina mediterranea*, *Amphiroa anceps* e da alga marrom *Sargassum filipendula* frente a linhagens de câncer de mama humano e câncer colorretal. No trabalho, é relatado que todos os

extratos utilizados foram citotóxicos para as linhagens tumorais de maneira dose-dependente, porém, mostrando maior seletividade para as células de câncer de mama. Prabakaran *et al.* (2020) testaram a ficocianina extraída da microalga *Spirulina platensis* frente a linhagem Hep-G2 (câncer de fígado), que reduziu a viabilidade celular em 68% na maior concentração testada.

## 2.4 Lectinas de organismos marinhos e sua aplicação biotecnológica

A palavra lectina é derivada do latim *legere*, escolhido. O termo foi utilizado pela primeira vez em 1954 por Boyd e Shapleigh para identificar a classe de proteínas que apresentam características em comum de seletividade a carboidratos (Santos *et al.*, 2014). Assim, as lectinas podem ser definidas como proteínas ou glicoproteínas que se ligam de forma específica e reversível a açúcares e glicoconjugados sem modificar sua estrutura (Ahmmed *et al.*, 2022; Allatorre-Cruz *et al.*, 2018). Por essas características, lectinas de diversos organismos vêm sendo estudadas, obtendo grande visibilidade nos estudos das interações entre proteínas e carboidratos, haja vista que a presença de glicanos é essencial para inúmeros processos biológicos (Chettri *et al.*, 2021).

O estudo sobre as lectinas teve início ainda no século XIX, onde vegetais foram utilizados como matéria prima, sendo isoladas das espécies *Ricinus communis* (mamona) a proteína ricina e de *Abrus precatorius* (ervilha-do-rosário) a proteína abrina (Chettri *et al.*, 2021). Apesar da gênese do seu estudo residir nas plantas terrestres, as lectinas de organismos marinhos vêm sendo cada vez mais investigadas, tendo em vista a diversidade de formas de vida existentes nesse ambiente, e o fato de que as lectinas de organismos marinhos são dotadas de diferentes características físico-químicas quando comparadas às lectinas de origem vegetal, devido à sua alta estabilidade, resultante do ambiente onde vivem, que passa por frequentes variações de temperatura, luminosidade e salinidade (Fontenelle *et al.*, 2018).

Nesse sentido, em relação à especificidade à açúcares, as lectinas de organismos marinhos são classificadas em lectinas de ligação a galactose (GBL), lectinas de ligação a ramnose (RBL), lectinas de ligação a fucose (FBL), lectinas específicas de GlcNAc, de ligação a manana (MBL) e lectinas específicas de GalNAc. A afinidade das lectinas oriundas de organismos marinhos por glicanos simples é bem baixa e pouco específica, porém, apresentam alta afinidade por carboidratos mais complexos, como os *N*-glicanos e os *O*-glicanos (Ahmmed *et al.*, 2022; Ferreira *et al.*, 2020).

Uma das aplicações das lectinas que é encontrada na literatura é a pró-cicatrizante. Nascimento-Neto e colaboradores (2012) descreveram a ação da lectina da alga *Bryothamnion*

*seafortii*, onde por meio de tratamento tópico foi capaz de induzir a cicatrização em modelo murino. Ainda em relação a algas vermelhas, a lectina BTL, de *Bryothamnion triquetrum* também demonstrou potencial pró-cicatrizante, induzindo a proliferação e migração de fibroblastos em concentrações abaixo de 250 µg/mL (Pinheiro, 2021).

Paralelo a isso, o potencial antibacteriano e antibiofilme das lectinas de organismos marinhos também é estudado. Carneiro e colaboradores (2017) demonstraram a atividade antibiofilme da lectina da esponja marinha *Aplysina lactuca* frente a *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Marques e colaboradores (2018), por sua vez, reportaram o efeito da lectina da esponja *Chondrilla caribensis* na redução dos biofilmes das bactérias *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Escherichia coli*. Já no ano de 2021, Swarna *et al.* avaliaram o potencial antimicrobiano da lectina dos ovos de *Aplysia kurodai* (lebre-do-mar, um molusco) frente a *Staphylococcus aureus*, *Shigella sonnei* e *Bacillus cereus*, onde a lectina inibiu o crescimento das bactérias testadas.

No que diz respeito a atividade anticâncer, no ano de 2022, Lee e colaboradores reportaram o efeito de lectinas da alga verde *Bryopsis plumosa* sobre linhagens tumorais de pulmão (A549, H460 e H1299), sendo capaz de interferir na migração celular, reduzir a formação de colônias e induzir apoptose. Ademais, o uso da lectina em combinação com o inibidor de EGFR, Gefitinib foi capaz de diminuir ainda mais a viabilidade das células utilizadas no estudo.

Os compostos derivados de organismos marinhos também apresentam atividade anti-inflamatória, conforme descrito por Fontenelle e colaboradores (2018). Os autores testaram a lectina da alga vermelha *Bryothamnion triquetrum* (BtL) em modelo murino e foi demonstrado que BtL foi capaz de reduzir o edema de pata, sendo a dose mais eficaz 10mg/kg, pois diminui o edema em mais de 70% após 1h de administração do composto.

## 2.5 Filo Rhodophyta e atividade anticâncer

Outros organismos com grande potencial para atividade anticâncer são as algas marinhas, que devido a sua disponibilidade e características físico-químicas, têm sido cada vez mais estudadas (Echave *et al.*, 2022). As lectinas de algas, particularmente, possuem baixo peso molecular e podem apresentar menor antigenicidade quando aplicadas a modelos biológicos (Singh; Walia, 2018; Teixeira *et al.*, 2012).

Pinto e colaboradores (2009) relataram que as lectinas das algas vermelhas *Bryothamnion triquetrum* (BTL) e *Bryothamnion seafortii* (BSL) foram capazes de diferenciar

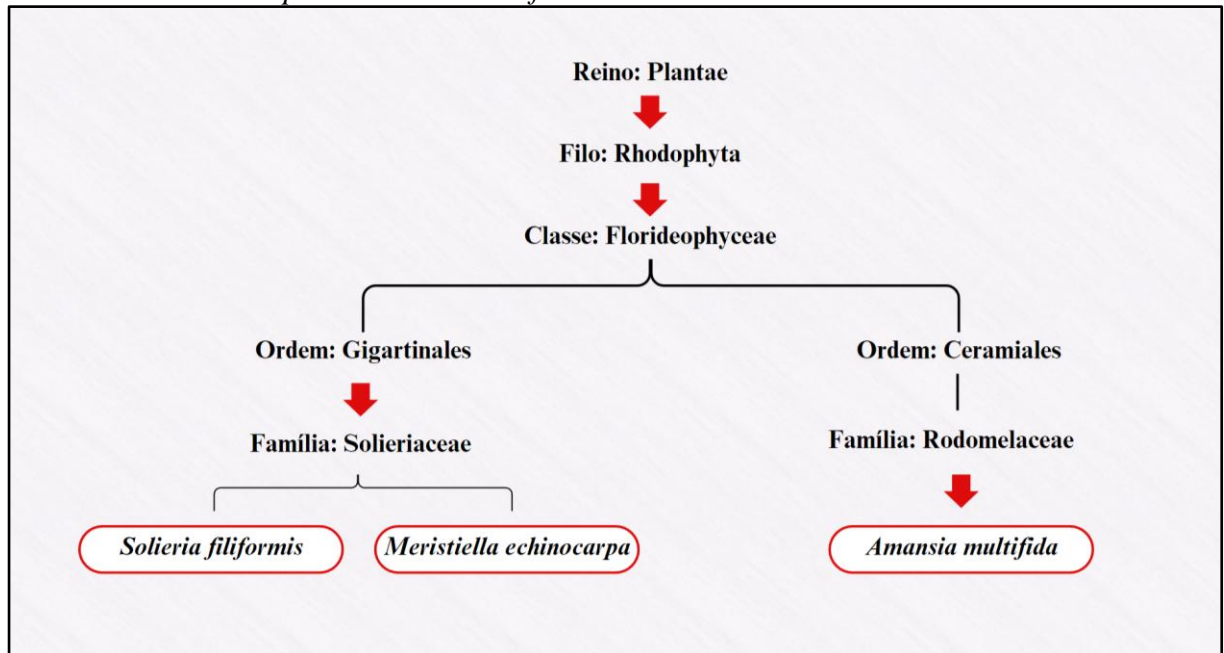
variantes de células de câncer de cólon humano. Sugahara e colaboradores (2001), avaliaram a atividade antitumoral da lectina de *Eucheuma serra*, que induziu a morte de células de câncer cervical (HeLa) e de cólon (Colo201) através da indução da caspase-3. Já em 2012, Hayashi *et al.* demonstraram que a lectina de *Eucheuma serra* induziu apoptose em células de osteossarcoma. Paralelo a isso, Yu e colaboradores (2015) relataram que o porfirano, um polissacarídeo extraído de *Porphyra yezoensis* apresentou efeito antiproliferativo frente a linhagem de células de câncer gástrico (SGC7901) e de pulmão (95-D).

No ano de 2017, Ibrahim e colaboradores avaliaram em modelo murino a atividade de do extrato etanólico da alga *Kappaphycus alvarezii*, onde foi capaz de aumentar a expressão de p53, induzindo a apoptose na dose de 150 mg/kg. A lectina de *Agardhiella tenera* foi citotóxica para uma linhagem de células leucêmicas (Shiomi; Kamiya; Shimizu, 1979). Rifi e colaboradores (2022), por sua vez, avaliaram o efeito de quatro extratos da alga *Jania rubens*, que foram capazes de reduzir a proliferação e a migração de diferentes linhagens de câncer de cólon em concentrações que variam em 389 - 2603 µg/mL.

## **2.6 Lectinas das algas marinhas *Solieria filiformis*, *Amansia multifida* E *Meristiella echinocarpa***

As algas *Solieria filiformis* (SfL), *Amansia multifida* (AML) e *Meristiella echinocarpa* (MEL) podem ser encontradas no litoral cearense e são filogeneticamente próximas, integrando o mesmo reino, filo e classe. *S. filiformis* e *M. echinocarpa* também pertencem à mesma ordem e família, divergindo a partir da classificação de gênero (Figura 3). As lectinas de *Solieria filiformis*, *Amansia multifida* e *Meristiella echinocarpa*, são pertencentes à família OAAH (homólogas à aglutinina de *Oscillatoria agardhii*). Dessa maneira, são lectinas que possuem características semelhantes entre si, como a afinidade de ligação por manose (Barre *et al.*, 2019).

**Figura 3** - Comparação filogenética das algas marinhas vermelhas *Solieria filiformis*, *Meristiella echinocarpa* e *Amansia multifida*



Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: As três espécies possuem similaridade de reino, filo e classe, divergindo a níveis de ordens e famílias.

### 2.6.1 *Solieria filiformis*

*Solieria filiformis* (Kützinger) P.W.Gabrielson (Figura 4) é uma alga vermelha comumente encontrada no litoral do Nordeste brasileiro. O gênero *Solieria* foi descrito pela primeira vez pelo estudioso sueco Jakob Georg Agardh em 1842 a partir da espécie *Solieria chordalis*, e hoje o gênero *Solieria* abriga dez espécies (Burlot *et al.*, 2023).

**Figura 4** - *Solieria filiformis*



Fonte: ALGAEbase, 2024.

A lectina de *S. filiformis* (SfL) é uma proteína de aproximadamente 28 kDa, e na literatura, já é descrita sua atividade anticâncer *in vitro* frente a linhagem MCF-7 (câncer de mama metastático), onde SfL induziu apoptose após 24h de exposição das células à proteína, na concentração de 125µg/mL (Chaves *et al.*, 2018b). Também é descrito por Abreu e colaboradores (2016) o efeito anti-inflamatório e antinociceptivo *in vivo* de SfL, e em 2018 e 2022, foi registrado pelos mesmos autores, o efeito antidepressivo da lectina em modelo murino. No ano de 2023, Chaves *et al.* reportaram o efeito pró-cicatrizante da lectina de *Solieria filiformis* (SfL) em modelo murino, onde a lectina foi capaz de reduzir a inflamação, além de induzir a proliferação de fibroblastos.

### 2.6.2 *Amansia multifida*

*Amansia multifida* (J.V.Lamouroux) 1809 (Figura 5) é uma alga vermelha da ordem Ceramiales, a qual abriga cerca de um terço de todas as espécies de algas vermelhas existentes (Díaz-Tapia *et al.*, 2019). A lectina de *Amansia multifida* (AML) é uma proteína monomérica de aproximadamente 30 kDa e possui atividades anti-inflamatória e antinociceptiva descritas na literatura (Costa *et al.*, 1999; Mesquita *et al.*, 2021; Neves *et al.*, 2007).

**Figura 5 - *Amansia multifida***



Fonte: Menezes, 2024.

### 2.6.3 *Meristiella echinocarpa*

*Meristiella echinocarpa* (Figura 6) é atualmente denominada *Meristotheca gelidium* (J. Agardh) Faye & Masuda (2004). A lectina de *M. echinocarpa* (MEL) é uma proteína monomérica de 28 kDa. Na literatura, é descrito que a MEL foi capaz de reconhecer e aglutinar cepas resistentes de *Salmonella* (Chaves *et al.*, 2018a).



**Figura 6 - *Meristiella echinocarpa***



Fonte: Menezes, 2024

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Investigar o potencial antiproliferativo de lectinas isoladas de organismos marinhos (algas e invertebrados) frente a células da linhagem A549 de carcinoma de pulmão humano.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Analisar o efeito de lectinas de organismos marinhos sobre a viabilidade de células tumorais (A549) e células normais (L929);
- Avaliar o efeito das lectinas sobre morfologia e adesão das células neoplásicas;
- Verificar o efeito das lectinas na deflagração de eventos apoptóticos em células tumorais;
- Avaliar a toxicidade aguda das lectinas em modelo de *Artemia salina*;
- Analisar a ativação das caspases executoras envolvidas no processo apoptótico em linhagens celulares tratadas com as lectinas propostas.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Isolamento e purificação das lectinas

As lectinas foram gentilmente cedidas pelo Laboratório de Biotecnologia Marinha, localizado no Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará. As espécies para a purificação das lectinas foram coletadas de praias do litoral cearense. O quadro 1 apresenta as lectinas utilizadas nos ensaios, o Filo a qual pertencem, especificidade e a referência metodológica para o isolamento e purificação.

Quadro 1 - Lista de espécies das lectinas estudadas com especificações

<b>Espécie</b>	<b>Filo</b>	<b>Especificidade</b>	<b>Referência</b>
<i>Amansia multifida</i>	Rhodophyta	Manose	Costa <i>et al.</i> , 1999
<i>Aplysina lactuca</i>	Porifera	Galactosídeos	Carneiro <i>et al.</i> , 2017
<i>Codium isthmocladum</i>	Chlorophyta	Carboidratos complexos	Carneiro <i>et al.</i> , 2020.
<i>Haliclona caerulea</i> (H-2)	Porifera	Galactosídeos	Carneiro <i>et al.</i> , 2013a
<i>Haliclona caerulea</i> (H-3)	Porifera	Galactosídeos	Carneiro <i>et al.</i> , 2013b
<i>Meristiella echinocarpa</i>	Rhodophyta	Manana de levedura	Chaves <i>et al.</i> , 2018a
<i>Solieria filiformis</i>	Rhodophyta	Manopentose	Chaves <i>et al.</i> , 2018b
<i>Tedania ignis</i>	Porifera	Dados não publicados	Dados não publicados

Fonte: Elaborado pela autora.

### 4.2 Linhagens celulares e condições de cultivo

As linhagens foram mantidas no Laboratório Integrado de Biomoléculas (LIBS), localizado no Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará. As células foram cultivadas em meio DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle's Medium*) (GIBCO® - life Technologies) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) (Bio Nutrientes), 10.000 U/ml de penicilina e 100 µg/ml de estreptomicina (Cytiva - HyClone™) e incubadas em estufa 37 °C e 5% de CO<sub>2</sub> e 95% de umidade. As linhagens utilizadas foram A549

(carcinoma de pulmão ATCC® CCL-185™) e L929 (fibroblastos murinos normais - ATCC CL929™), cultivadas em frascos T25 (Kasvi). As células foram mantidas nas condições descritas. O meio de cultura foi trocado a cada três dias e ao atingirem ao menos 80% de confluência foram tripsinizadas (0,025% tripsina / 0,1% EDTA) para subcultivo e realização dos experimentos.

### 4.3 Avaliação da viabilidade celular por MTT

A viabilidade celular foi determinada pelo método colorimétrico MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-2H-tetrazólio) (Invitrogen™ MTT Thermo Fisher Scientific). As células (50.000 células/mL) foram semeadas em placas de 96 poços, de poliestireno de fundo chato em meio DMEM com 10% de SFB e incubadas por 24h a 37 °C, a 5 % de CO<sub>2</sub>, 95% de umidade. Após isso, o sobrenadante foi substituído por meio de cultura com 2% de SFB com variadas concentrações das lectinas (500; 250; 125; 62,5; 31,2; 15,7; 7,8 µg/mL). O ensaio foi realizado em tempos de 24, 48 e 72 h. Após cada tempo, o meio foi retirado e substituído por 100 µL de meio não suplementado no qual adicionou-se 20 µL da solução de MTT. Após a adição do MTT, as placas foram incubadas por 4 h, e após isso, foi adicionado 100 µL de DMSO P.A (Dimetilsufóxido, NEON) para solubilizar os cristais de formazan. Os testes foram realizados em triplicata (n=3) técnicos e experimentais. A densidade óptica foi avaliada em comprimento de onda de 570 nm com o leitor de microplacas SpectraMax i3 (Santiago, 2021, adaptado). A viabilidade celular foi calculada de acordo com a fórmula a seguir e após, definido o IC<sub>50</sub>:

$$Viabilidade\ celular\ (\%) = \frac{Abs_{570nm} (lectina)}{Abs_{570nm} (controle)} \times 100$$

Para o cálculo do IC<sub>50</sub> das moléculas, as porcentagens obtidas em cada repetição foram tabuladas no *software* GraphPad Prism® 8, foram normalizadas, aplicadas em regressão não linear e obteve-se o valor do IC<sub>50</sub> em µM. A conversão para µg/mL foi realizada da seguinte forma:

$$IC_{50} \text{ em } \mu g = IC_{50} \text{ em } \mu M \times 1000 \times \text{massa molecular da lectina em kDa}$$

#### 4.4 Avaliação da morfologia (panótico rápido)

As células foram semeadas em placas de 96 poços de poliestireno de fundo chato (50.000 células/mL) em meio DMEM com 10% de SFB e incubadas por 24 h a 37 °C, a 5% de CO<sub>2</sub>, 95% de umidade. Após isso, o sobrenadante foi substituído por meio de cultura com 2% de SFB com concentrações referentes ao dobro do IC<sub>50</sub>, IC<sub>50</sub> e metade do IC<sub>50</sub> de cada lectina testada. As células foram tratadas com as lectinas por 48 h. Após isso, foi retirado o sobrenadante e as células foram coradas na própria placa com panótico rápido (LABORCLIN), seguindo as recomendações do fabricante. As imagens foram obtidas por meio da câmera acoplada ao microscópio invertido Eclipse TS 100 (Nikon), no aumento de 100x.

#### 4.5 Interferência das lectinas na adesão celular

Para o ensaio de adesão, a linhagem A549 foi semeada (50.000 células/mL) em placas de 96 poços em meio de cultura, já contendo as lectinas na concentração do IC<sub>50</sub>. O comportamento foi observado no microscópio invertido Eclipse TS100 (Nikon) nos tempos 0, 2, 4, 8, 12, 24 e 48 horas (aumento de 100x).

#### 4.6 Avaliação de morte celular induzida por SfL, AML e MEL (citometria de fluxo)

As células foram semeadas (200.000 células/mL) em placas de 12 poços com meio suplementado com 10% de SFB e cultivadas durante 24 horas para adesão na placa. Após isso, foram adicionadas as lectinas de interesse nas concentrações do dobro do IC<sub>50</sub> e do IC<sub>50</sub> por 24 horas. As células do controle negativo foram incubadas com DMEM suplementado com 2% de SFB. Para o controle positivo de apoptose, foi utilizada a lectina ConA (Concanavalina A, de *Canavalia ensiformis*, 32,6 µg/mL). Após o tratamento, as células foram tripsinizadas e centrifugadas (1.500 rpm por 5 min) e lavadas por duas vezes com PBS. As células foram ressuspensas com o tampão de ensaio do kit utilizado, na proporção indicada pelo fabricante. As células foram marcadas com Anexina V e 7-AAD (BD Pharmingen™ PE Annexin V Apoptosis Detection Kit I). A análise foi realizada no BD FACSCelesta™ Cell Analyzer, do Centro Pasteur-Fiocruz de Imunologia e Imunoterapia. Os dados foram tratados com auxílio dos *softwares*, FlowJo e GraphPad Prism 8.

#### 4.7 Avaliação da viabilidade, citotoxicidade e ativação de caspases 3/7

Para isso, foi utilizado o kit Apotox-Glo Triplex (Promega) seguindo as recomendações do fabricante. As células foram semeadas (50.000 células/mL) em placa de 96 poços opaca (Corning®) e mantidas por 24 horas nas condições padrão de cultivo. Após isso, foram adicionados 100 µL das lectinas nas concentrações do dobro do IC<sub>50</sub> e do IC<sub>50</sub> por 24 horas. Como controles, foram utilizados meio DMEM com 2% de SFB e Concanavalina A (32,6 µg/mL). Após o período de incubação com as lectinas e controles, foram adicionados 20µL/poço do reagente de citotoxicidade/viabilidade e a placa foi incubada ao abrigo de luz por 1 hora e realizada a leitura da fluorescência no SpectraMax i3 para avaliar a viabilidade (400 nm, excitação - 505 nm emissão) e a citotoxicidade (485 nm, excitação - 520nm, emissão). Após isso, foram adicionados 100µL/poço do reagente CaspaseGlo 3/7. A placa foi incubada por 1 hora ao abrigo de luz e realizada a leitura da luminescência.

#### 4.8 Toxicidade *in vivo* (*Artemia salina*)

Para isto, 100 mg de cistos de *Artemia salina* foram mantidos em aquário com solução salina (1020 g/cm<sup>3</sup>), em temperatura ambiente, sob iluminação constante por 24 horas para a eclosão. Os cistos eclodidos, nesse estágio denominados náuplios, foram transferidos para uma placa de 6 poços de fundo plano, com auxílio de uma pipeta de vidro de bico alongado juntamente com a solução salina. No primeiro poço, foram adicionadas 10 mL de solução salina com náuplios e nos demais, 3 mL de náuplios e 3 mL de solução salina, exceto por um dos poços da placa onde foi adicionado apenas solução salina, para auxiliar na montagem da placa para o experimento em si.

Em uma placa de 24 poços de fundo plano (TPP®), foram adicionados 10 náuplios por poço. Após a distribuição, o volume dos poços foi ajustado para 200 µL com solução salina ajustada para 1020 g/cm<sup>3</sup>. Os náuplios foram tratados com concentrações variadas das lectinas Sfl, AML e MEL (500; 250; 125; 62,5; 31,2; 15,7; 7,8 µg/mL) por 24 horas. Como controle negativo, utilizou-se solução salina a 3,5%. O experimento foi realizado em triplicata.

#### **4.9 Análise estatística**

Todos os dados foram processados com auxílio do software GraphPad Prism® 8. As estatísticas são apresentadas como média  $\pm$  SD e foram analisadas pelo teste One Way ANOVA com pós teste de Tukey. Os dados foram considerados estatisticamente significativos quando  $p < 0,05$ .

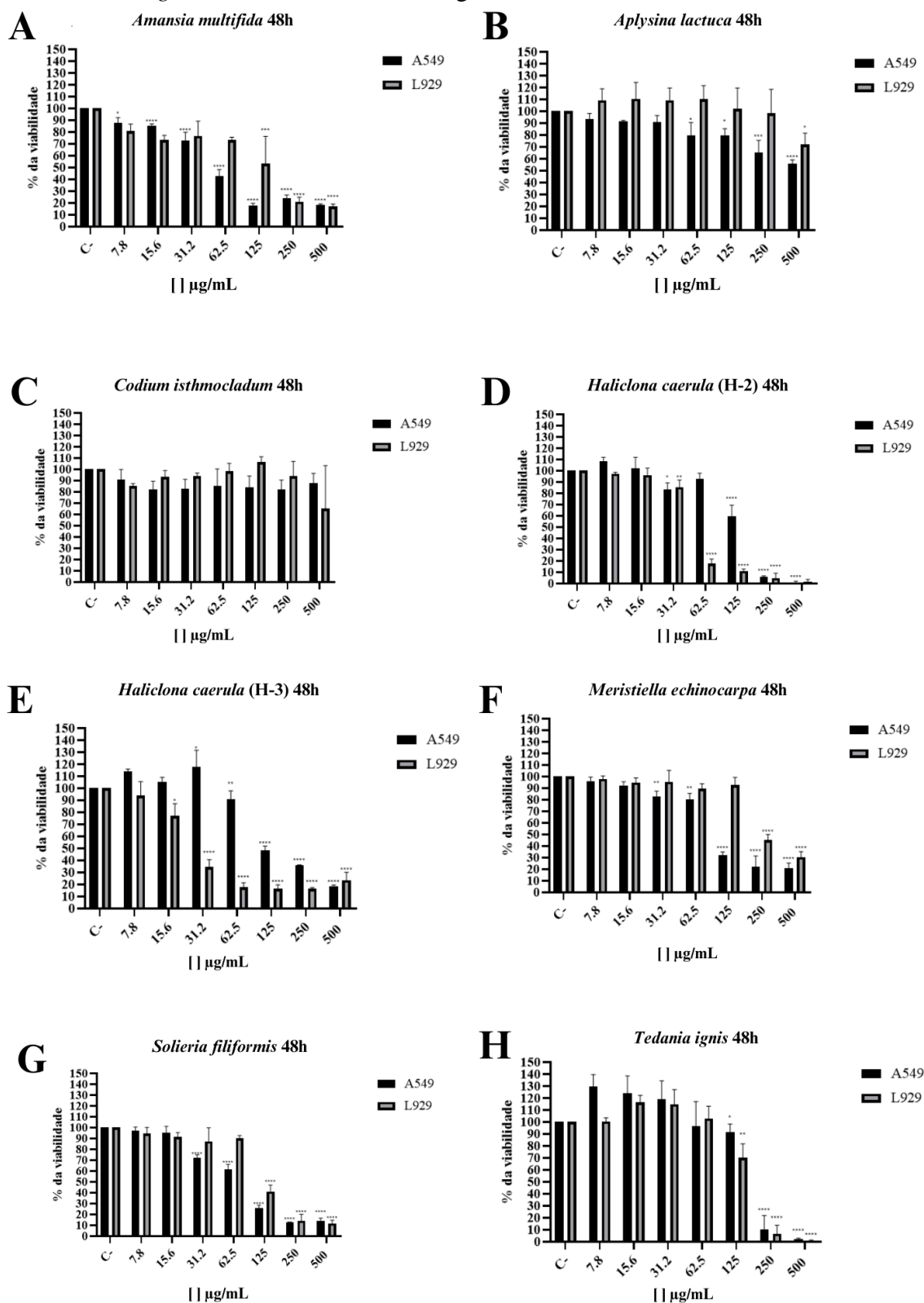
## **5 RESULTADOS DISCUSSÃO**

### **5.1 Avaliação da viabilidade celular**

O potencial citotóxico das lectinas foi avaliado frente às linhagens A549 (carcinoma de pulmão ATCC® CCL-185™) e L929 (fibroblastos murinos normais - ATCC CL929™), submetidas inicialmente aos tratamentos por 48 h. Para isso, foi utilizado o teste colorimétrico MTT, que consiste na redução do sal amarelo tetrazólio pelas desidrogenases mitocondriais, sendo convertido a cristais de formazan roxos que são insolúveis em água (Anam *et al*, 2017). Esses testes foram necessários para avaliar quais lectinas apresentavam o melhor desempenho frente às linhagens testadas (Figura 7).



**Figura 7 -** Screening do efeito das lectinas de organismos marinhos frente a A549 e L929



Fonte: Elaborada pela autora.

Legenda: Comparativo do efeito de diferentes lectinas oriundas de organismos marinhos frente a linhagem tumoral A549 e a linhagem saudável L929. Todos os grupos foram testados nas concentrações de 500 – 7,5 µg/mL por 48h. C-: Controle negativo (DMEM 2% SFB).  $p < 0,05 \pm SD$ .

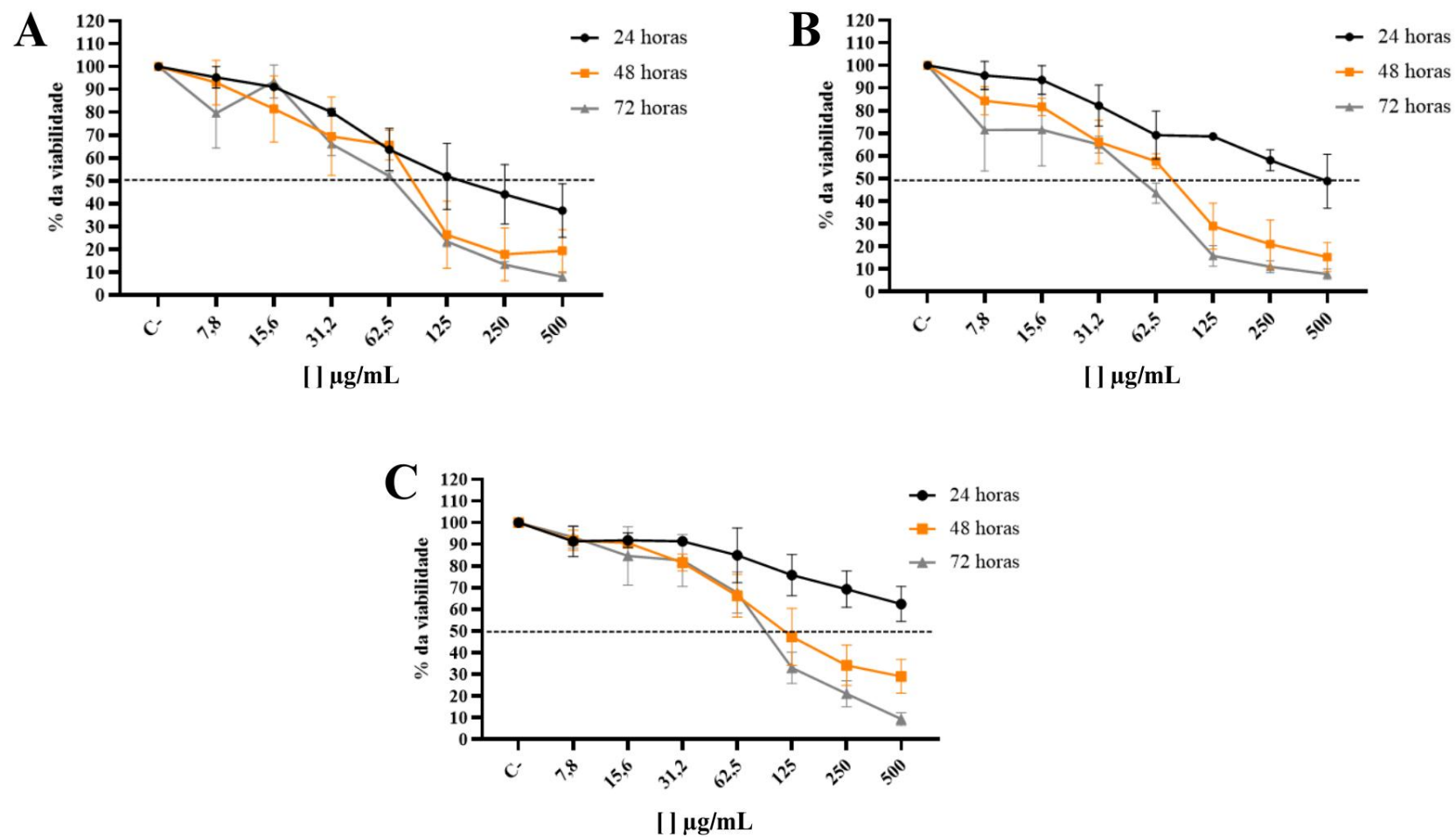
As lectinas ALL (*Aplysina lactuca*) e Cil- 1 (*Codium isthmocladum*) (Figura 7 B e C, respectivamente) foram excluídas dos testes seguintes, pois, apesar de demonstrarem baixa toxicidade para a linhagem L929, também demonstraram baixa seletividade para A549. Não há registros na literatura da investigação da ação antitumoral da ALL, porém, é relatado por Duarte e colaboradores (2023) que a lectina ALL foi capaz de potencializar o efeito do antibiótico ampicilina, frente a cepas de *Staphylococcus sp.* resistentes à metilicina.

A lectina Cil-1, por sua vez, teve seu efeito antinociceptivo e anti-inflamatório em modelo experimental *in vivo* (*Danio rerio*) relatado por Alves e colaboradores (2022). No trabalho, os autores apresentaram que em relação à atividade anti-inflamatória, Cil-1 foi mais eficaz em reduzir o edema abdominal dos animais do que o Diclofenaco, utilizado como medicamento de referência durante os testes. Além disso, Senthilkumar e Jayanthi (2016) avaliaram o efeito citotóxico de uma glicoproteína de *Codium decorticatum* frente às linhagens A549, SiHa e MCF-7, onde foi detectada a indução de apoptose após 24 horas, com IC<sub>50</sub> de 55, 75 e 60 µg/mL, respectivamente.

As lectinas H2 , H3 (ambas de *Haliclona caerulea*) e Tie (*Tedania ignis*) (Figura 7 D, E e H, respectivamente) também foram excluídas dos testes seguintes, pois demonstraram maior toxicidade para a linhagem normal. Entretanto, Nascimento-Neto e colaboradores (2018), relataram o efeito anticâncer de H3 frente a linhagem MCF-7 (câncer de mama metastático) na concentração de 100 µg/ml. Após 24h de tratamento, a lectina interferiu na fase G1 do ciclo celular, além de interferir na adesão das células testadas. Paralelo a isso, a espécie *Tedania ignis* também possui algumas atividades biológicas descritas na literatura. Denominado Tedanol, é um diterpeno isolado de *T. ignis* que possui atividade anti-inflamatória avaliada em modelo murino, reduzindo o edema de pata induzido por carragenina (Ehrlich *et al.*, 2008).

Diante do *screening* realizado, verificou-se que o tratamento com AML, MEL, SfL (Figura 7, A, F e G, respectivamente) reduziu a viabilidade das células da linhagem A549 em 50% após 48 h. Além disso, apresentaram menor toxicidade para L929 nas mesmas concentrações testadas. Dessa maneira, os demais ensaios foram conduzidos apenas com SfL, AML e MEL. Portanto, realizou-se o teste de MTT com as três lectinas escolhidas nos tempos de 24, 48 e 72 h, avaliou-se o tempo mínimo de melhor ação (Figura 8) e os testes seguintes foram realizados apenas com SfL, AML e MEL.

**Figura 8** - Atividade de SfL, AML e MEL sobre a linhagem A549 ao longo dos tempos testados



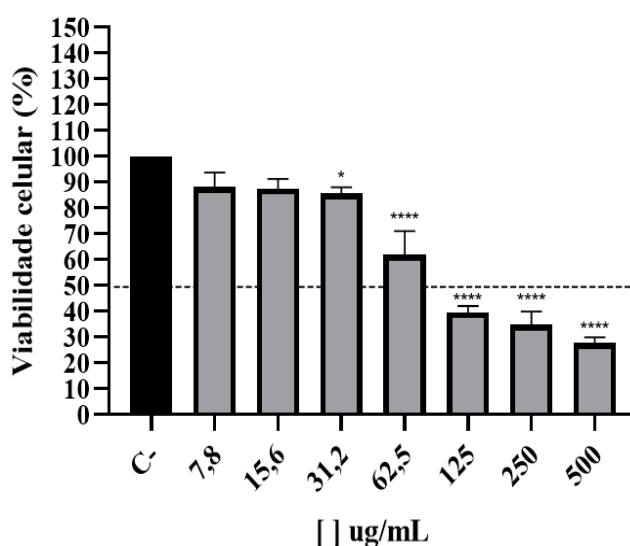
Fonte: Elaborada pela autora.

Legenda: A: SfL; B: AML; C: MEL. Testadas em 24, 48 e 72 horas. C-: Controle negativo (DMEM 2% SFB). n=3.  $p < 0,05 \pm SD$ .

Assim, observou-se que o melhor tempo de ação foi após 48 h de exposição às lectinas. A partir disso, foi calculado o IC<sub>50</sub> (Gráficos 1, 2 e 3) e os experimentos seguintes também foram conduzidos considerando o período de 48 h.

Para a lectina de *S. filiformis*, após 48 horas o percentual de inibição nas concentrações de 500 à 125 µg/mL foi de 72,4%, 65,2% e 60,2%, respectivamente. Assim, o IC<sub>50</sub> de SfL foi estabelecido em 65,6 µg/mL (Tabela 1). O efeito de SfL nas demais concentrações pode ser visualizado no gráfico 1 e na tabela 1.

Gráfico 1 - Efeito da lectina SfL sobre a viabilidade da linhagem A549 (48 h)



Fonte: Elaborado pela a autora.

Legenda: Efeito de SfL frente a linhagem A549 (carcinoma de pulmão) em 48 horas. C-: Controle negativo (DMEM 2% SFB). n= 3; p<0,05 ±SD.

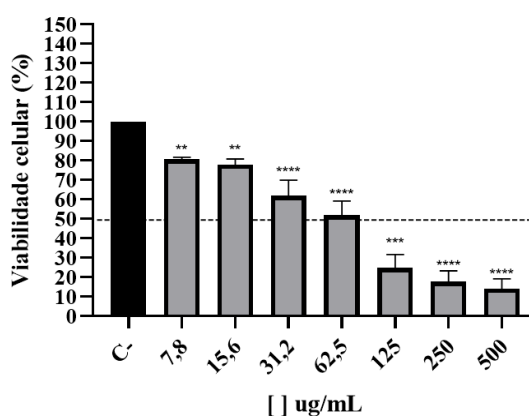
Tabela 1 - Efeito da lectina SfL sobre a viabilidade da linhagem A549 (48h)

Linhagem celular após 48h de tratamento	Concentração SfL ( $\mu\text{g/mL}$ )	Valor da viabilidade $\pm$ SD (%)	Inibição (%)
A549 $\text{IC}_{50}$ : 65,6 $\mu\text{g/mL}$	500	$27,6 \pm 2,230$	72,4
	250	$34,8 \pm 5,104$	65,2
	125	$39,5 \pm 2,564$	60,5
	62,5	$61,9 \pm 9,106$	38,1
	31,2	$85,6 \pm 2,475$	14,4
	15,6	$87,4 \pm 3,794$	12,6
	7,8	$88,1 \pm 5,589$	11,9
	0	100	0

Fonte: Elaborada pela autora.

Para a lectina de *A. multifida*, os percentuais de inibição nas concentrações de 500 a 62,5  $\mu\text{g/mL}$  foram de 85,9%, 82,4%, 75,3% e 48,3%, respectivamente, após 48 horas. Assim, o  $\text{IC}_{50}$  de AML foi calculado em 52,4  $\mu\text{g/mL}$  (Tabela 2). O efeito de AML nas demais concentrações pode ser visualizado no gráfico 2 e na tabela 2.

Gráfico 2 - Efeito da lectina AML sobre a viabilidade da linhagem A549 (48 h)



Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: Efeito de AML frente a linhagem A549 (carcinoma de pulmão) após 48 horas. C-: Controle negativo (DMEM 2% SFB). n= 3;  $p < 0,05 \pm \text{SD}$ .

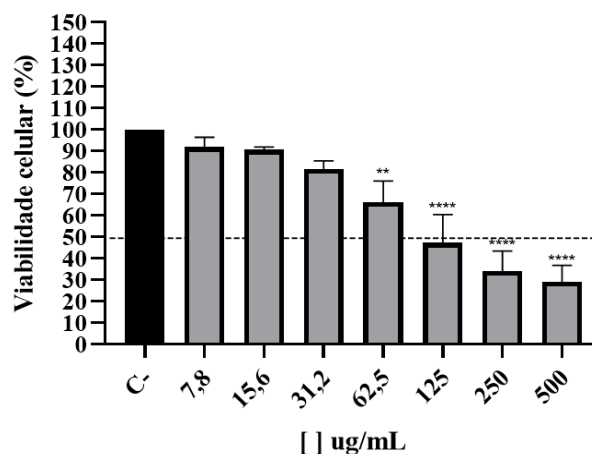
Tabela 2 - Efeito da lectina AML sobre a viabilidade da linhagem A549 (48 h)

<b>Linhagem celular após 48h de tratamento</b>	<b>Concentração AML (µg/mL)</b>	<b>Valor da viabilidade ± SD (%)</b>	<b>Inibição (%)</b>
A549 IC <sub>50</sub> : 52,4 µg/mL	500	14,1 ± 5,046	85,9
	250	17,6 ± 5,712	82,4
	125	24,7 ± 6,977	75,3
	62,5	51,7 ± 7,462	48,3
	31,2	61,8 ± 8,103	38,2
	15,6	77,8 ± 2,972	22,2
	7,8	80,5 ± 1,202	19,5
	0	100	0

Fonte: Elaborada pela a autora.

Paralelo a isso, a lectina de *M. echinocarpa*, por sua vez, os percentuais de inibição nas concentrações de 500 à 125µg/mL foram de 71%, 65,9%, e 52,8% após 48 horas, respectivamente. O IC<sub>50</sub> da MEL foi determinado em 134,8 µg/mL (Tabela 2). O efeito de MEL nas demais concentrações testadas pode ser visualizado no gráfico 2 e na tabela 2.

Gráfico 3 - Efeito da lectina MEL sobre a viabilidade da linhagem A549 (48 h)



Fonte: Elaborado pela a autora

Legenda: Efeito de MEL frente a linhagem A549 (carcinoma de pulmão) após 48 horas. C-: Controle negativo (DMEM 2% SFB). n= 3; p<0,05 ±SD.

Tabela 3 - Efeito da lectina MEL sobre a viabilidade da linhagem A549 (48 h)

Linhagem celular após 48h de tratamento	Concentração MEL (µg/mL)	Valor da viabilidade ± SD (%)	Inibição (%)
A549 IC <sub>50</sub> : 134,8 µg/mL	500	29,3 ± 7,784	71
	250	34,16 ± 9,317	65,9
	125	47,2 ± 13,18	52,8
	62,5	66,2 ± 9,805	33,8
	31,2	81,5 ± 3,942	18,5
	15,6	90,6 ± 1,258	9,4
	7,8	91,8 ± 4,663	8,3
	0	100	0

Fonte: Elaborada pela a autora.

Nesse contexto, *Kappaphycus alvarezii* é uma alga vermelha pertencente à família Solieriaceae, assim como *S. filiformis* e *M. echinocapa*. Uma nova lectina extraída de *K.*

*alvarezii* denominada Siye foi avaliada quanto ao seu potencial anticâncer frente às linhagens HCC1937, A549, HepG2, HeLa e HL60. A lectina demonstrou resultados promissores para todas as linhagens testadas, ressaltando sua atividade frente a A549, com um IC<sub>50</sub> de 0,7786 µg/mL após 24 horas de exposição, a lectina promoveu apoptose inicial e taxa de apoptose tardia nove vezes maior do que o grupo controle. Os níveis de expressão de caspase 9 e TP53 também foram significativamente aumentados (Xu *et al.*, 2024).

Paralelo a isso, fitoconstituintes isolados de *Acanthophora spicifera*, uma alga vermelha da ordem Ceramiales e família Rodomelaceae, assim como *A. multifida*, demonstraram potencial citotóxico para células HeLa e A549. As células foram tratadas em concentrações de 12,5 a 200 µM. Para A549 especificamente, o denominado cetosterol, foi capaz de diminuir a viabilidade celular em 50% na concentração de 10,01 µM após 24 horas de exposição. O mesmo componente, na concentração do seu IC<sub>50</sub> foi capaz de induzir a apoptose além de parada do ciclo celular na fase G1 (Sali *et al.*, 2018).

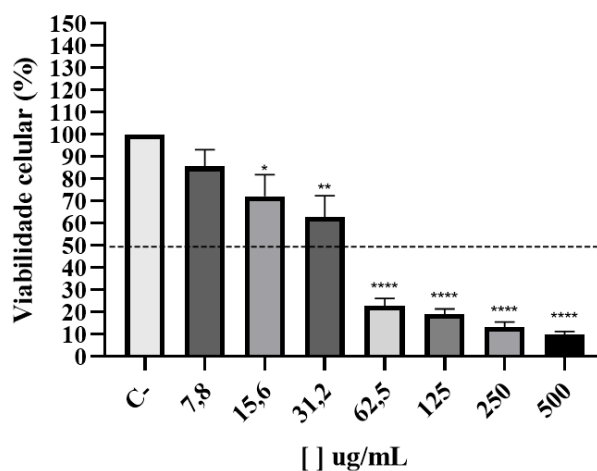
Foi relatado por Alkhalaf (2021) os efeitos anti-inflamatório, antioxidante e anticâncer do extrato etanólico da alga vermelha *Chondrus crispus*, uma alga vermelha da ordem Gigartinales, assim como *M. echinocarpa* e *S. filiformis*. Os extrato foi testado contra as linhagens A549, HepG2, MCF-7 e Caco-2 (cânceres de pulmão, fígado, mama e cólon, respectivamente), demonstrando ser citotóxico e agindo de maneira mais eficaz do que o medicamento de referência Sorafenibe no caso das linhagens A549 e HepG2 após 24 horas de exposição na concentração de 100 µg/mL.

Paralelamente, realizou-se o ensaio de MTT também com a lectina ConA, conhecida por induzir apoptose em linhagens tumorais, e com especificidade para N-glicanos ricos em manose (Correia, 2022; Neis, 2024). O objetivo foi definir o IC<sub>50</sub> da lectina no tempo de 48 h. Estabelecendo assim um controle positivo para os ensaios de investigação de mecanismo de indução de morte celular.

Os percentuais de inibição de Concanavalina A em relação a A549, nas concentrações de 500 - 62,5 µg/mL foram de 90,3%, 86,8%, 80,9% e 77,1% respectivamente (Gráfico 4, tabela 4).



Gráfico 4 – Efeito de ConA sobre a viabilidade da linhagem A549 (48 h)



Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: Efeito de ConA frente a linhagem A549 (carcinoma de pulmão) após 48 horas. C-: Controle negativo (DMEM 2% SFB). n= 3; p<0,05 ±SD.

Tabela 4 - Efeito da lectina ConA sobre a viabilidade da linhagem A549 (48 h)

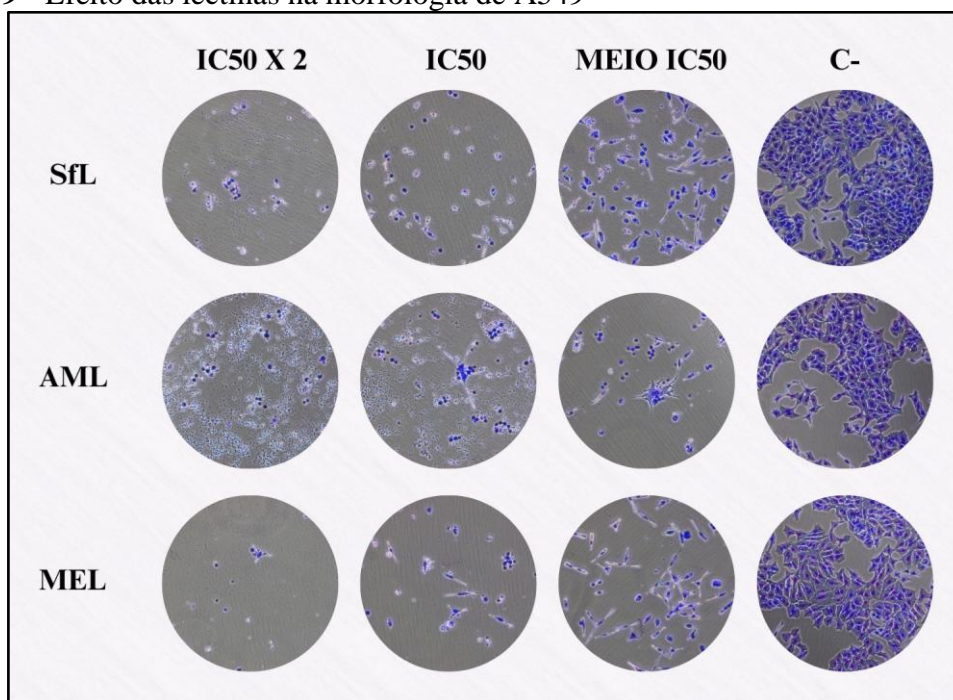
Linhagem celular após 48h de tratamento	Concentração ConA (µg/mL)	Valor da viabilidade ± SD (%)	Inibição (%)
A549 IC <sub>50</sub> : 32,6 µg/mL	500	9,7 ± 1,545	90,3
	250	13,2 ± 2,331	86,8
	125	19,1 ± 2,289	80,9
	62,5	22,9 ± 3,203	77,1
	31,2	62,8 ± 9,575	37,2
	15,6	72,2 ± 9,718	27,8
	7,8	85,5 ± 7,603	14,5
	0	100	0

Fonte: Elaborada pela a autora.

## 5.2 Avaliação de morfologia (Panótico)

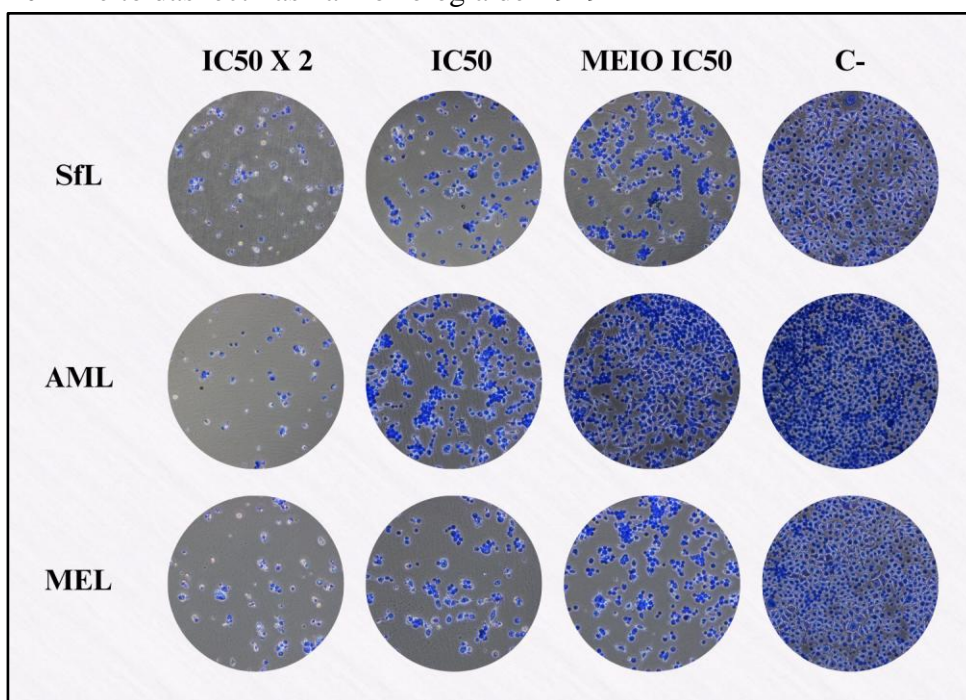
O processo de morte celular é marcado também por alterações morfológicas. Nesse sentido, para avaliar a influência de SfL, AML e MEL sobre a morfologia da linhagem A549 foi utilizada a coloração de panótico rápido. As células foram observadas em microscópio óptico. As linhagens A549 e L929 foram tratadas por 48h com as três lectinas supracitadas, nas concentrações referentes ao dobro do  $IC_{50}$ ,  $IC_{50}$  e metade do  $IC_{50}$  (Figuras 9 e 10).

**Figura 9** - Efeito das lectinas na morfologia de A549



Fonte: Elaborada pela autora.

Legenda: Efeito de SfL, AML e MEL sobre a morfologia da linhagem A549 (carcinoma de pulmão) após 48h de exposição. Concentrações utilizadas: Dobro do  $IC_{50}$  SfL (131,2 $\mu$ g/mL); AML (104,8 $\mu$ g/mL); MEL (269,6 $\mu$ g/mL),  $IC_{50}$  SfL (65,6 $\mu$ g/mL); AML (52,4 $\mu$ g/mL); MEL (134,8 $\mu$ g/mL) e metade do  $IC_{50}$  SfL (32,8 $\mu$ g/mL); AML (26,2 $\mu$ g/mL); MEL (67,4 $\mu$ g/mL). C-: Controle negativo (DMEM com 2% de SFB). Aumento: 100x.

**Figura 10** - Efeito das lectinas na morfologia de L929

Fonte: Elaborada pela autora.

Legenda: Efeito de SfL, AML e MEL sobre a morfologia da linhagem L929 (fibroblastos murinos normais) após 48h de exposição. Concentrações utilizadas: Dobro do IC<sub>50</sub> SfL (131,2µg/mL); AML (104,8µg/mL); MEL (269,6µg/mL), IC<sub>50</sub> SfL (65,6µg/mL); AML (52,4µg/mL); MEL (134,8µg/mL) e metade do IC<sub>50</sub> SfL (32,8µg/mL); AML (26,2µg/mL); MEL(67,4µg/mL). C-: Controle negativo (DMEM com 2% de SFB). Aumento: 100x.

Em A549 foram observadas alterações morfológicas como tamanho celular reduzido, afinamento nos prolongamentos citoplasmáticos, bem como sua retração, além da diminuição da densidade celular quando comparada ao controle. Em L929, também foram notadas alterações semelhantes, entretanto, percebe-se que em relação a diminuição da densidade celular, L929 manteve-se em maior número quando comparado a A549 nas mesmas concentrações.

Sob essa perspectiva, o citoesqueleto possui três componentes principais, sendo eles os microtúbulos, os filamentos intermediários e os filamentos de actina. Os microtúbulos e os filamentos de actina são amplamente estudados como alvo de moléculas com potencial antitumoral, haja vista que esses componentes estão relacionados com a morfologia celular e a interação célula-célula. Assim, alterações nessas estruturas interferem na proliferação celular e, consequentemente, induzem a apoptose (Takayasu, 2024).

Exemplos clássicos de drogas com esse mecanismo de ação, são os chamados taxanos, como o paclitaxel e o docetaxel, utilizado para o tratamento de diversos cânceres, dentre eles o câncer de pulmão de não pequenas células. Esses medicamentos são os chamados Agentes Alvo de Microtúbulos (Gallego-Jara *et al.*, 2020). Paralelo a isso, a

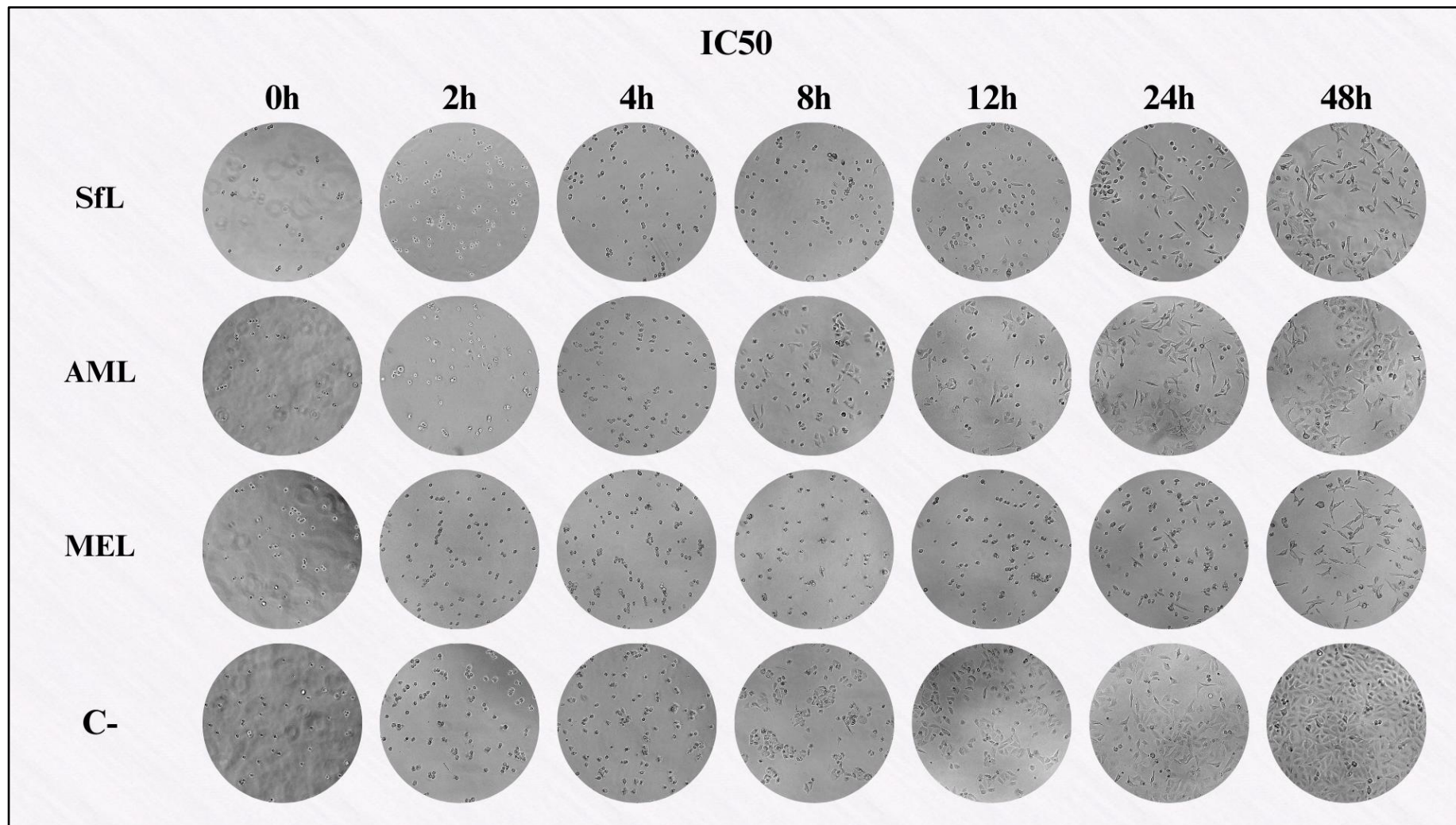
Citocalasina, um metabólito fúngico, atua ligando-se a rede de actina, induzindo a despolimerização das fibras e interferindo na divisão celular, resultando na apoptose (Santos, 2022).

### **5.3 SfL, AML E MEL interferem na adesão celular**

A adesão é um processo fundamental para a proliferação de células aderentes. A adesão celular ocorre através de forças eletrostáticas e das interações dessas cargas com glicoproteínas de adesão. Essa interação desencadeia um processo de sinalização intracelular que resulta na produção e liberação de proteínas da matriz extracelular, onde a célula irá se aderir e iniciar seu processo de replicação (Alves; Guimarães, 2010).

Como pode ser observado na figura 11, as células tratadas com SfL, AML e MEL, apresentam, em sua maioria, formato esférico até o período de 8h de exposição no caso de AML, 12h de exposição para SfL e MEL. O grupo controle, começa a apresentar morfologia característica da linhagem a partir da segunda hora de plaqueamento, onde sua morfologia passa a apresentar um formato mais próximo do oval e sendo possível observar o início do aparecimento dos prolongamentos citoplasmáticos, característicos da linhagem A549.

**Figura 11** - Adesão de A549 frente as lectinas testadas



Fonte: Elaborada pela autora.

Legenda: Linha 1: Células tratadas com SfL (65,6 $\mu$ g/mL); Linha 2: Células tratadas com AML( 52,4  $\mu$ g/mL); Linha 3: Células tratadas com MEL (134,8  $\mu$ g/mL); Linha 4: Controle (DMEM 2% de SFB). Aumento: 100x.



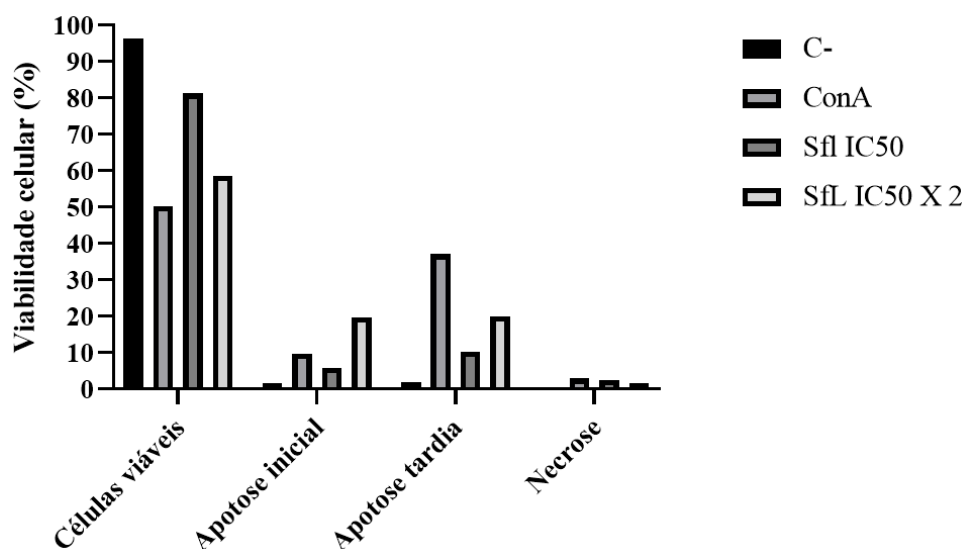
Além disso, ao observar o tempo máximo de exposição às lectinas, é possível perceber que muitas células ainda apresentam formato arredondado, e as poucas células que se encontram totalmente aderidas, estão com os prolongamentos celulares mais finos quando comparadas ao controle. Ademais, há uma acentuada diferença de densidade celular nos grupos tratados também em comparação ao controle.

As integrinas e as caderinas são grupos de proteínas diretamente relacionadas com a adesão célula-célula e célula-matriz extracelular. Nesse sentido, o *anoikis* - do grego “sem teto”, é o nome dado a apoptose induzida pela perda da adesão célula-matriz, interrompendo a ligação das integrinas com a matriz extracelular. O *anoikis* é um processo importante para a manutenção da homeostase. Um dos mecanismos de sobrevivência tumoral é a fuga da *anoikis*, sendo mediada pela ativação de vias como a PI3K/AKT, Ras e ERK (Wang *et al.*, 2022).

Em relação ao câncer de pulmão, muitos produtos naturais vêm sendo explorados visando o favorecimento do *anoikis*. A imperatorina extraída das raízes de *Angelica dahurica* promoveu o aumento da expressão de p53 e Bax em células H292 e A549 (Choochuay *et al.*, 2013). A lupalbigenina, extraída de *Derris scandens*, uma planta asiática da família Fabaceae foi capaz de inibir as vias AKT e ERK nas células H460, uma linhagem de câncer de não pequenas células (Ausawasamrit *et al.*, 2015).

#### **5.4 Indução de apoptose/necrose por SfL, AML e MEL**

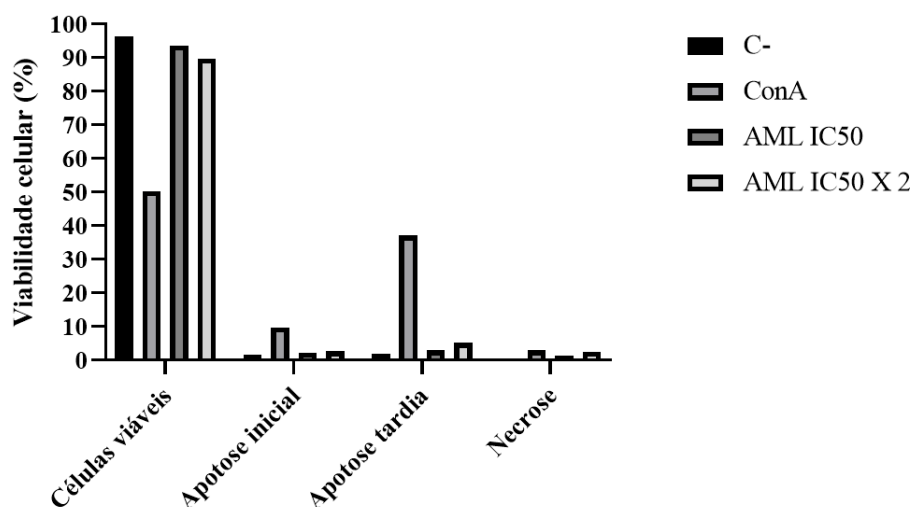
O potencial indutor de apoptose de SfL, AML e MEL foi investigado por meio de citometria de fluxo. A linhagem A549 foi avaliada após 24 horas de tratamento nas concentrações do IC<sub>50</sub> e do dobro do IC<sub>50</sub> visando captar os momentos iniciais do processo de morte celular. A lectina de *S. filiformis* foi capaz de induzir 19,8% e 5,8% de apoptose inicial, 20% e 10,3% de apoptose tardia nas concentrações do dobro do IC<sub>50</sub> e do IC<sub>50</sub>, respectivamente. A porcentagem de células viáveis foi de 58,5% e 81,3% nas mesmas concentrações (Gráfico 5).

**Gráfico 5** - Indução de apoptose por Sfl

Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: Avaliação do efeito de Sfl sobre A549. IC<sub>50</sub> X 2 (131,2µg/mL) IC<sub>50</sub> (65,6µg/mL) Controle positivo: ConA (Concanavalina A, 32,6µg/mL ); C-: DMEM 2% SFB. n=1.

A lectina de *A. multifida*, por sua vez, induziu 2,6% e 2,2% de apoptose inicial, 5,1% e 2,9% de apoptose tardia nas concentrações do dobro do IC<sub>50</sub> e do IC<sub>50</sub>, respectivamente. O percentual de células viáveis nos tratamentos com AML foi de 89,8% e 93,5% nas mesmas concentrações (Gráfico 6).

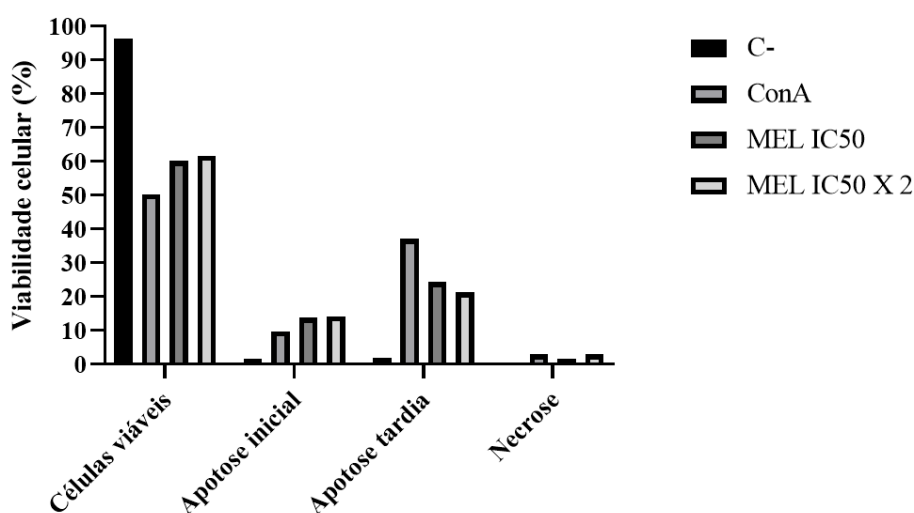
**Gráfico 6** - Indução de apoptose por AML

Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: Avaliação do efeito de AML sobre A549. IC<sub>50</sub> X 2 (104,8µg/mL), IC<sub>50</sub> (52,4µg/mL) Controle positivo: ConA (Concanavalina A, 32,6µg/mL); C-: DMEM 2% SFB. n=1.

Por fim, *M. echinocarpa* apresentou 14,1% e 13,8% de células em apoptose inicial, 21,3% e 24,3% de apoptose tardia nas concentrações do dobro do IC<sub>50</sub> e do IC<sub>50</sub>, respectivamente. Além disso, os valores de células viáveis obtidos foram de 14,1% e 13,8%. Como controle positivo de apoptose, foi utilizada a lectina ConA (Concanavalina A), que apresentou os seguintes percentuais de 9,7% e 37,1% para apoptose inicial e tardia, respectivamente. O controle negativo (DMEM 2% SFB), apresentou 1,73% de células em apoptose inicial, 1,77% em apoptose tardia, e 96,2% de células viáveis (Gráfico 7).

**Gráfico 7** - Indução de apoptose por MEL



Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: Avaliação do efeito de AML sobre A549. IC<sub>50</sub> X 2 (269,6µg/mL), IC<sub>50</sub> (134,8µg/mL). Controle positivo: ConA (Concanavalina A, 32,6µg/mL); C-: DMEM 2% SFB. N=1.

O potencial indutor de apoptose de outras algas marinhas vermelhas também é relatado na literatura. Chaves e colaboradores (2018) relataram a indução de apoptose em células da linhagem MCF-7 pela lectina *Solieria filiformis* após 24 horas de tratamento, na concentração de 125 µg/mL. Kazłowska e colaboradores (2013), testaram *in vitro* e *in vivo* um extrato da alga vermelha *Porphyra dentata* frente a células 4T1, uma linhagem de câncer de mama. O extrato induziu apoptose após 48 horas de tratamento. Extratos de *Amphiroa anceps* induziram apoptose e necrose em células da linhagem A549 após 24 horas de tratamento na concentração de 100 µg/mL (Janani *et al.*, 2024). Um componente isolado da alga vermelha *Gelidiella acerosa*, induziu apoptose mediada por caspase em células A549 após 6 horas de exposição a 1,5 mg/ml do composto (SM *et al.*, 2018).

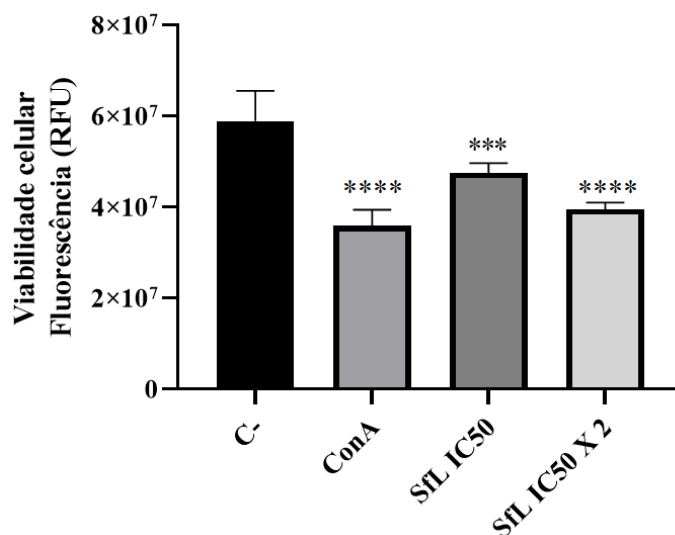


Componentes extraídos de outros organismos marinhos também são relatados como indutores de apoptose. A lectina da esponja *Cinachyrella apion*, induziu apoptose inicial em células HeLa na concentração de 10 µg/mL após 24 horas de tratamento. Nesse estudo, além dos ensaios de citometria de fluxo, ao realizarem *western blotting* observaram uma expressão aumentada da proteína pró-apoptótica Bax (Rabelo *et al.*, 2012). Dois polissacarídeos da alga marrom *Colpomenia sinuosa*, o fuicoidan e o alginato, quando combinados com vitamina C, causaram em células da linhagem HCT-116 (câncer de cólon) alterações morfológicas típicas de apoptose, como encolhimento celular e condensação do citoplasma (Al Monla *et al.*, 2022). A lectina do crustáceo *Ibacus novemdentatus*, induziu a apoptose de células HeLa via caspase-3, após 48 horas de tratamento (Fujii *et al.*, 2017).

### 5.5 Avaliação da ativação das caspases 3/7

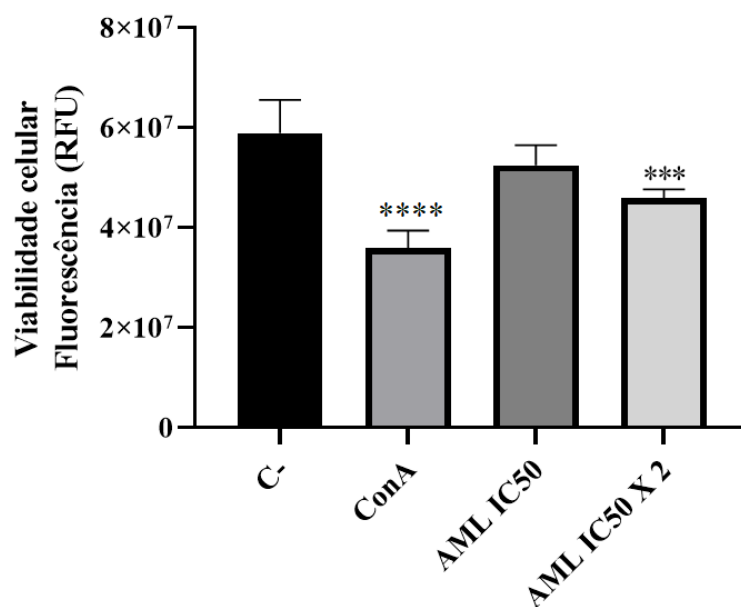
Para isto, foi utilizado o kit ApoTox-Glo, que reúne três ensaios que avaliam simultaneamente a viabilidade, a citotoxicidade e os eventos de ativação de caspase. A primeira parte do ensaio avalia simultaneamente duas atividades de protease, uma relacionada ao marcador de viabilidade celular (*glycyl-phenylalanyl-aminofluorocoumarin*; GF-AFC) e a outra ao marcador de citotoxicidade (*bis-alanylalanyl-phenylalanyl-rhodamine* 110; bis-AAF-R110). A segunda parte do ensaio usa a Caspase-Glo® fornecendo um substrato caspase-3/7 luminogênico, que contém a sequência tetrapeptídica DEVD, formada pelos resíduos Aspartato (D), Glutamato (E), Valina (V) e Aspartato (D), um substrato específico para a caspase-3. Nesse sentido, os testes foram realizados após 24 horas de tratamento com as lectinas, visando adequar ao mesmo tempo do ensaio de citometria de fluxo.

Nos gráficos 8, 9 e 10, é possível visualizar o percentual de viabilidade das células A549 tratadas com as lectinas SfL, AML e MEL, respectivamente.

**Gráfico 8** - Viabilidade de A549 frente a SfL

Fonte: Elaborado pela autora

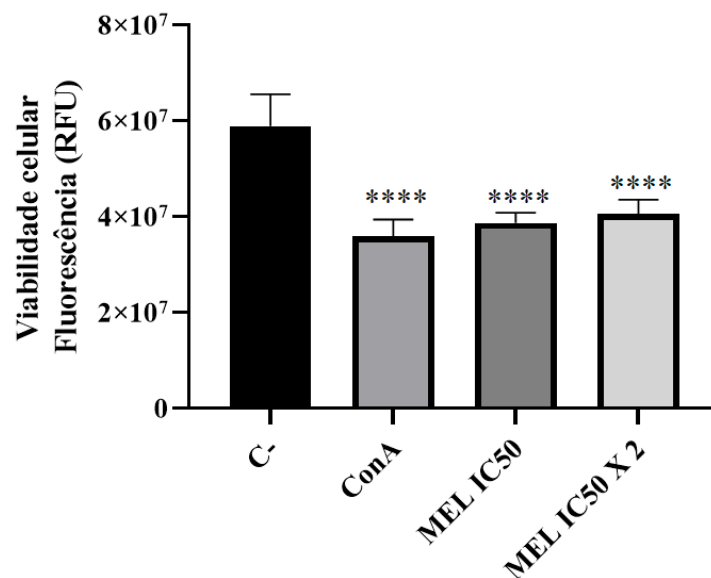
Legenda: Avaliação da viabilidade de A549 após 24 horas de tratamento com SfL. IC<sub>50</sub> X 2 (131,2µg/mL) IC<sub>50</sub> (65,6µg/mL) Controle positivo: ConA (Concanavalina A, 32,6µg/mL). C-: DMEM 2% SFB. p<0,05 ±SD. n=2.

**Gráfico 9** - Viabilidade de A549 frente a AML

Fonte: Elaborado pela autora

Legenda: Avaliação da viabilidade de A549 após 24 horas de tratamento com AML. IC<sub>50</sub> X 2 (104,8µg/mL), IC<sub>50</sub> (52,4µg/mL) Controle positivo: ConA (Concanavalina A, 32,6µg/mL); C-: DMEM 2% SFB. p<0,05 ±SD. n=2.

**Gráfico 10** - Viabilidade de A549 frente a MEL

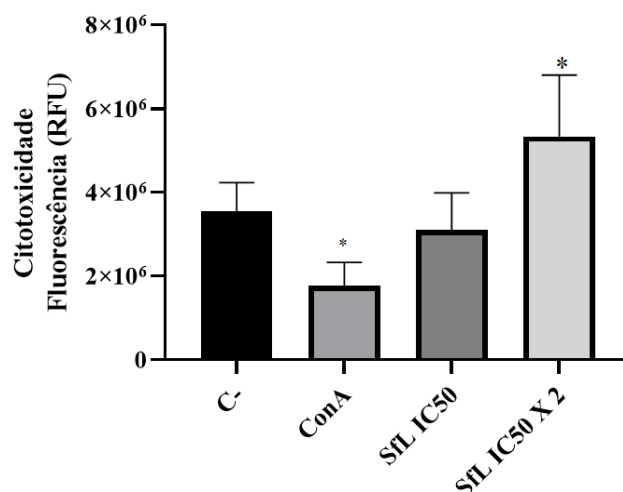


Fonte: Elaborado pela autora

Legenda: Avaliação da viabilidade de A549 após 24 horas de tratamento com MEL. IC<sub>50</sub> X 2 (269,6µg/mL), IC<sub>50</sub> (134,8µg/mL) Controle positivo: ConA (Concanavalina A, 32,6µg/mL). C-: DMEM 2% SFB. p<0,05 ±SD. n=2.

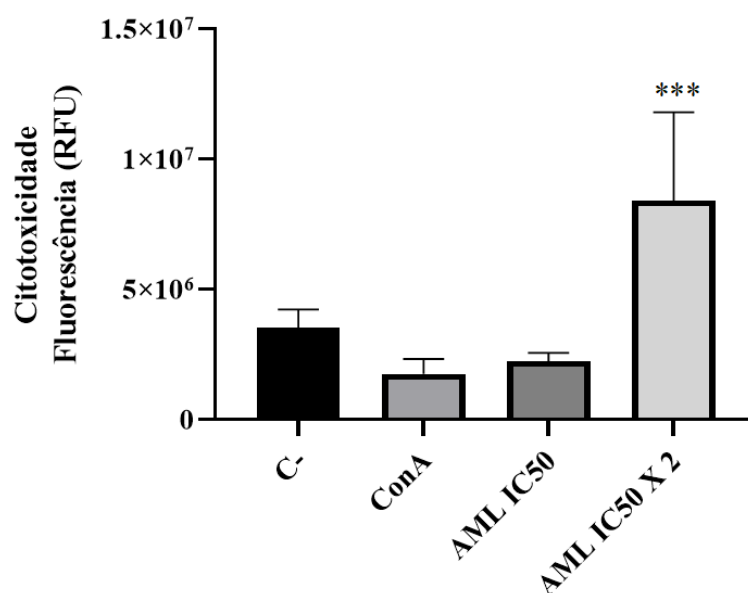
Tanto Sfl, como AML e MEL demonstraram interferir na viabilidade de A549, apresentando significância estatística em relação ao controle negativo (DMEM 2% SFB) e ficando em um valor próximo do resultado obtido para Concanavalina A.

Paralelamente, no gráfico 11, é possível observar uma maior citotoxicidade na concentração de 131,2µg/mL, o dobro do IC<sub>50</sub>. O que corrobora com a maior porcentagem de apoptose tardia identificada na citometria de fluxo para a mesma concentração de tempo de exposição.

**Gráfico 11** - Efeito citotóxico de SfL frente a A549

Fonte: Elaborado pela autora

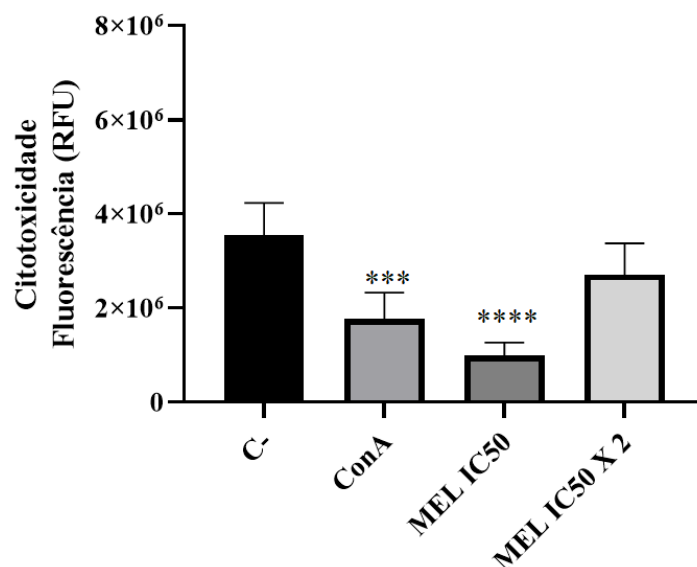
Legenda: Avaliação do efeito citotóxico de SfL após 24 horas de tratamento. SfL IC<sub>50</sub>= 65,6 µg/mL ; IC<sub>50</sub> X 2= 131,2 µg/mL. ConA: 32,6 µg/mL. C-: DMEM 2% SFB. p<0,05 ±SD. n=2.

**Gráfico 12** - Efeito citotóxico de AML frente a A549

Fonte: Elaborado pela autora

Legenda: Avaliação do efeito citotóxico de AML frente A549 após 24 horas de tratamento com AML. AML IC<sub>50</sub>= 52,4 µg/mL ; IC<sub>50</sub> X 2= 104,8 µg/mL. ConA: 32,6 µg/mL. C-: DMEM 2% SFB. p<0,05 ±SD. n=2.

**Gráfico 13** - Efeito citotóxico de MEL frente a A549

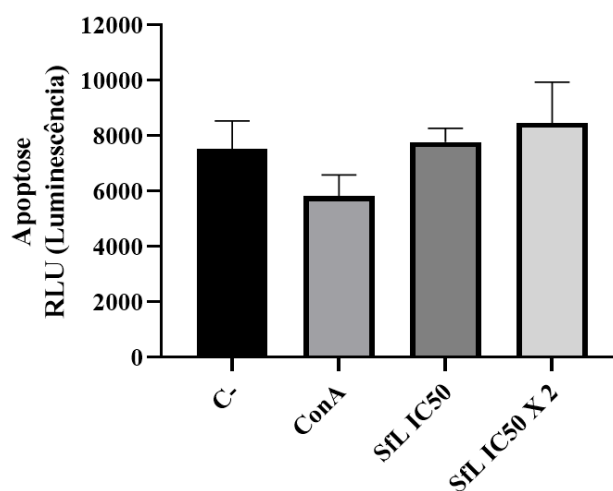


Fonte: Elaborado pela autora

Legenda: Avaliação do efeito citotóxico de MEL frente A549 após 24 horas de tratamento com MEL. MEL IC<sub>50</sub>= 134,8µg/mL ; IC<sub>50</sub> X 2= 269,6µg/mL. ConA: 32,6µg/mL. C-: DMEM 2% SFB. p<0,05 ±SD. n=2.

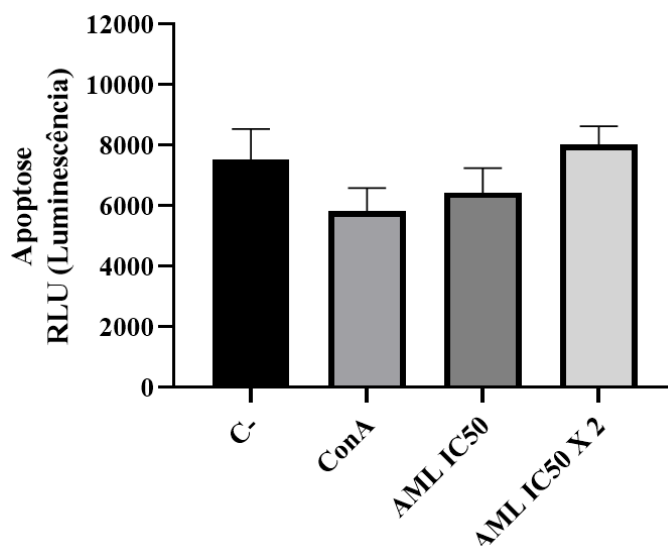
Os gráficos 14, 15 e 16 apresentam os dados referentes à ativação das caspases. Não houve aumento expressivo da ativação das caspases 3/7 para nenhuma das lectinas testadas no período de 24 horas quando comparado aos controles.

**Gráfico 14** - Ativação das caspases 3/7 por SfL



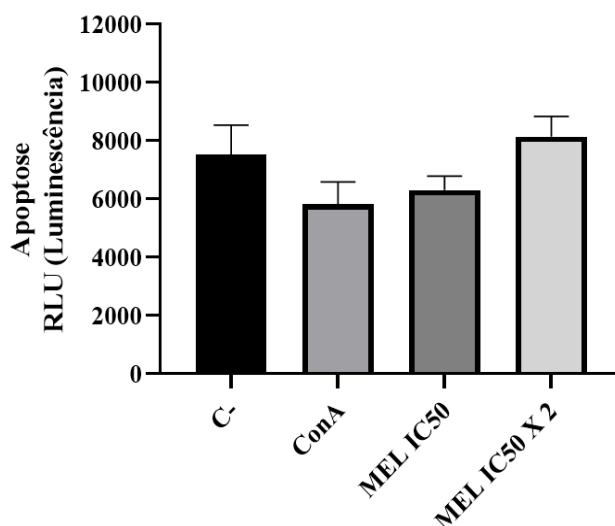
Fonte: Elaborado pela autora

Legenda: Avaliação da ativação das caspases 3/7 por SfL após 24 horas. SfL IC<sub>50</sub>= 65,6µg/mL ; IC<sub>50</sub> X 2= 131,2µg/mL. ConA: 32,6µg/mL. C-: DMEM 2% SFB. p<0,05 ±SD. n=2.

**Gráfico 15** - Ativação das caspases 3/7 por AML

Fonte: Elaborado pela autora

Legenda: Avaliação da ativação das caspases 3/7 por AML após 24 horas. AML IC<sub>50</sub>= 52,4µg/mL ; IC<sub>50</sub> X 2= 104,8µg/mL. ConA: 32,6µg/mL. C-: DMEM 2% SFB. p<0,05 ±SD. n=2.

**Gráfico 16** - Ativação das caspases 3/7 por MEL

Fonte: Elaborado pela autora

Legenda: Avaliação da ativação das caspases 3/7 por MEL frente A549 após 24 horas. MEL IC<sub>50</sub>= 134,8µg/mL ; IC<sub>50</sub> X 2= 269,6µg/mL. ConA: 32,6µg/mL. C-: DMEM 2% SFB. p<0,05 ±SD. n=2.

Nessa perspectiva, a apoptose é uma via de morte celular onde as células ativam enzimas que degradam o DNA e demais componentes celulares (Kumar, 2018). Na cascata apoptótica, um dos pontos chave é a ativação da caspase-3. Apesar da presença da caspase-3 ser um grande indicativo de apoptose, outras caspases, como as caspases 8 e 9, que não

foram avaliadas no presente trabalho, também são indicativos de morte celular por apoptose, diferenciando apenas a via (Carvalho; Recco-Pimentel, 2019). Ademais, o tempo utilizado para o ensaio pode ter interferido na captura do pico de ativação das caspases, haja vista que o IC<sub>50</sub> determinado neste estudo, teve como base o tempo de 48 horas de exposição das células às lectinas. Entretanto, vale ressaltar que o tempo de exposição adotado neste ensaio teve como base o ensaio de citometria de fluxo.

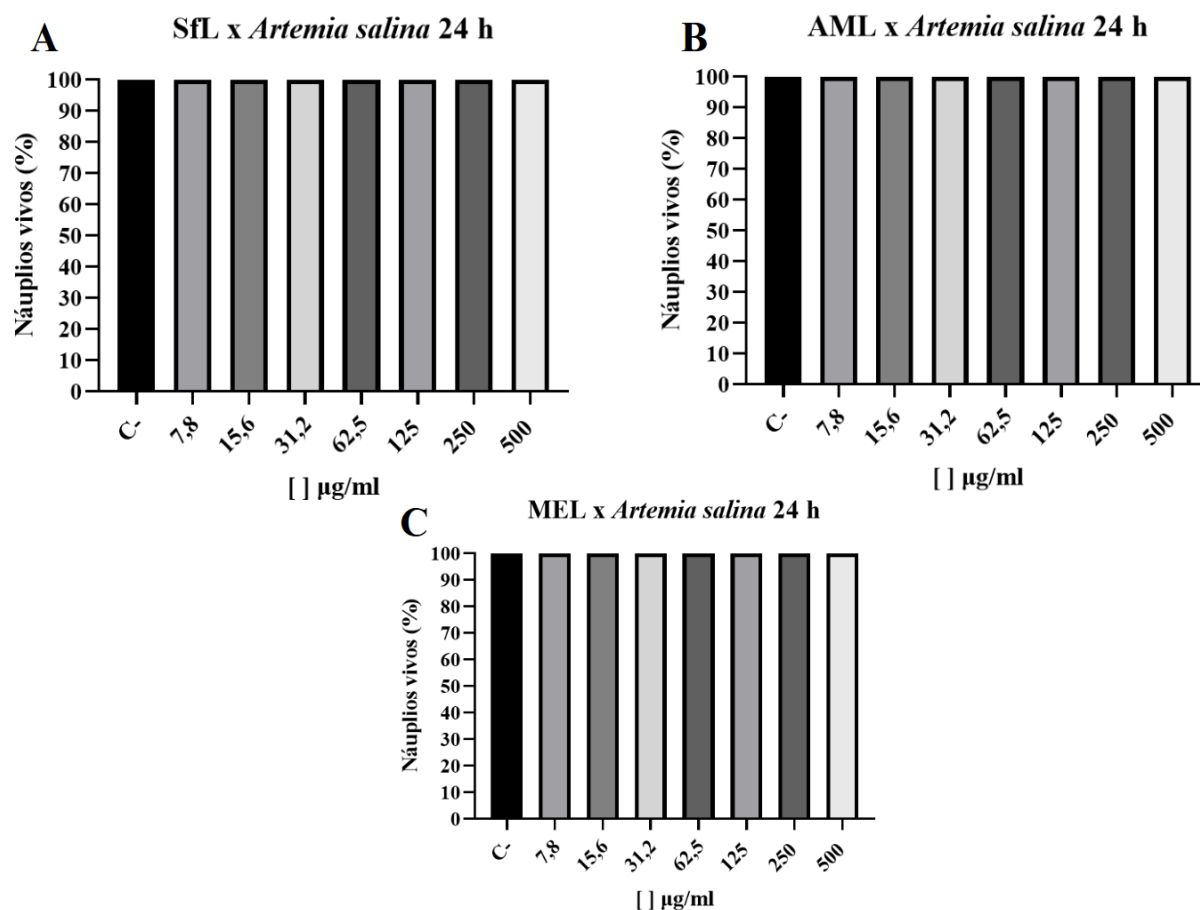
Sob essa ótica, Wu e colaboradores (2014) ao investigar os possíveis mecanismos de morte induzidos pelas lectinas de *Dicentrarchus labrax* (peixe) e *Strongylocentrotus purpuratus* (ouriço-do-mar) nas linhagens BEL-7404 (câncer hepático), A549 (carcinoma de pulmão) e SW480 (carcinoma colorretal), verificaram que apesar de marcarem positivamente para Anexina-V e 7-AAD, as lectinas não aumentaram a ativação de caspases, porém, diminuíram a expressão de elementos anti-apoptóticos como Bcl-2. Yang e colaboradores (2014), por sua vez, ao avaliar o efeito citotóxico da lectina do molusco *Halotis discus discus*, mediado por um adenovírus que codifica a lectina de ligação ao ácido siálico, frente a células Hep3B, A549 e H1299, também induziu apoptose, porém não houve aumento na ativação das caspases e apresentou diminuição nos níveis de Bcl-2.

## **5.6 Influência de Sfl, AML e MEL na motilidade e morfologia dos náuplios de *Artemia salina***

Visando avaliar a toxicidade *in vivo* das lectinas, utilizou-se o modelo de *A. salina*, um microcrustáceo do filo Artropoda. O modelo de toxicidade em náuplios de *Artemia salina* é uma opção versátil, de baixo custo, e que demanda pouco tempo e amostras para a execução e obtenção de resultados, sendo uma opção interessante para testes de toxicidade aguda (Martins et al., 2021) e também, uma abordagem segura antes de testes em modelos biológicos mais complexos como o *zebrafish* (*Danio rerio*) e modelos murinos.

Para investigar a toxicidade das moléculas, foi realizada uma avaliação qualitativa e quantitativa, levando em consideração a quantidade de náuplios vivos e mortos e verificando aspectos morfológicos dos mesmos. Foram realizadas duas repetições do ensaio, e foi verificado que 100% dos náuplios utilizados no ensaio mantiveram-se vivos após 24 horas de tratamento com as lectinas, não sendo possível determinar uma CL<sub>50</sub> com base nas concentrações testadas, reforçando que as lectinas utilizadas nos ensaios *in vitro* são consideradas seguras no modelo de análise de toxicidade aguda em náuplios de *Artemia salina* (Figura 12). Foram considerados vivos os organismos que apresentaram movimento intenso ao serem expostos a uma fonte luminosa por 10 segundos.

**Figura 12** - Porcentagem de náuplios vivos após 24 horas de tratamento.



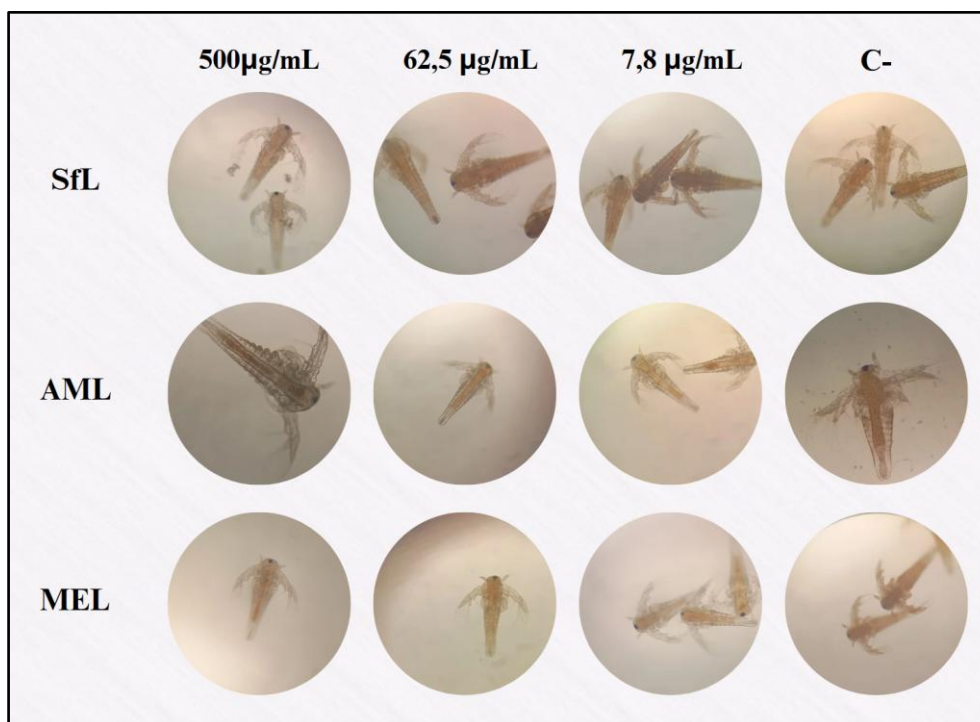
Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: A: SfL; B: AML; C: MEL. Testadas em 24h. C-: Controle negativo (Solução salina 3,5%). Ensaio realizado em triplicata (n=2).

Além disso, não foi observada alteração na motilidade dos náuplios. Manfra e colaboradores (2016) colocam que alterações na motilidade podem ser utilizadas como parâmetro para avaliação da expressão de toxicidade aguda. Em relação a morfologia dos náuplios (sinais de má formação como deformações no ocelo ou má formação das pernas) também não foram observadas alterações quando comparados ao controle (Figura 13).



**Figura 13** - Morfologia de *Artemia salina* após 24 horas de tratamento



Fonte: Elaborado pela autora.

Legenda: Efeito das lectinas frente a *A. salina* após 24 horas. Na imagem, a apresentação das concentrações de 500, 62,5 e 7,8 µg/mL. C-: Controle negativo (solução salina 3,5%). Ensaio realizado em triplicata.

Aumento: 10x. n=2.

Parte desses dados corrobora com os achados de Silva (2010), que ao testar a lectina AML frente a *A. salina* por 72 horas, nas concentrações de 1, 5, 10, 50 e 100 µg/mL, também não se mostrou tóxica. Almeida (2023) por sua vez, testou AML frente aos náuplios nas concentrações de 12,5; 25; 50 e 100 µg/mL, por 24 horas. Neste ensaio, a lectina também não demonstrou toxicidade. Em contrapartida, a mesma autora também realizou o ensaio com SfL nas mesmas concentrações e tempo de exposição de AML, entretanto, SfL mostrou-se tóxica para os náuplios, obtendo uma  $CL_{50}$  de 55,5 µg/mL. Não há na literatura registros de testes com náuplios de artêmia com a lectina MEL.

## 6 CONCLUSÃO

Os achados apontam que as lectinas de *Solieria filiformis*, *Amansia multifida* e *Meristiella echinocarpa* possuem efeito citotóxico frente a linhagem A549, e toxicidade reduzida para L929. Ademais, as lectinas influenciam na morfologia e na adesão da linhagem tumoral, e induzem a morte da linhagem A549. Além disso, não se mostraram tóxicas para *Artemia salina*. Apesar disso, estudos adicionais são necessários para definir a especificidade fina de SfL, AML e MEL em relação aos glicanos que são reconhecidos, e elucidar de forma precisa a via de morte celular envolvida, sendo necessárias análises com variações de tempo de exposição nos ensaios de citometria de fluxo e avaliação de ativação das caspase, além de testes adicionais que avaliem o envolvimento de genes e proteínas reguladores da apoptose.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, Ticiana Monteiro *et al.* Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the lectin from marine red alga *Solieria filiformis*. **Planta medica**, v. 82, n. 07, p. 596-605, 2016.
- ABREU, Ticiana Monteiro *et al.* Involvement of the dopaminergic system in the antidepressant-like effect of the lectin isolated from the red marine alga *Solieria filiformis* in mice. **International journal of biological macromolecules**, v. 111, p. 534-541, 2018.
- ABREU, Ticiana Monteiro *et al.* Lectin isolated from the red marine alga *Solieria filiformis* (Kützinger) PW Gabrielson: Secondary structure and antidepressant-like effect in mice submitted to the lipopolysaccharide-induced inflammatory model of depression. **Algal Research**, v. 65, p. 102715, 2022.
- A.C Camargo Câncer Center. **Pulmão**. São Paulo. 2024. Disponível em: <https://accamargo.org.br/sobre-o-cancer/tipos-de-cancer/pulmao#:~:text=No%20Brasil%2C%20segundo%20estimativas%20do,casos%20est%20C3%A3o%20associados%20ao%20tabaco>
- ++
- AHMED, Mirja Kaizer *et al.* An Update of Lectins from Marine Organisms: Characterization, Extraction Methodology, and Potential Biofunctional Applications. **Marine Drugs**, v. 20, n. 7, p. 430, 2022.
- ALATORRE-CRUZ, J. M. *et al.* Effects of intragastrically-administered Tepary bean lectins on digestive and immune organs: Preclinical evaluation. *Toxicology Reports*, v. 5, p.56-64, 2018.
- ALGAEBASE. *Solieria filiformis* (Kützinger) P.W.Gabrielson. 2024. Disponível em: [https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species\\_id=686](https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=686) Acesso em: 12 out 2024.
- ALKHALAF, Maha I. Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic effects of *Chondrus crispus* species of red algae collected from the Red Sea along the shores of Jeddah city. **Journal of King Saud University-Science**, v. 33, n. 1, p. 101210, 2021.
- ALMEIDA, Alexandra Sampaio de. Avaliação do potencial antibiofilme e antimicrobiano de lectinas extraídas de organismos marinhos. 2023. 95 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Pesca) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2023.
- ALMEIDA, Ana. Atlas do Câncer de Pulmão. Observatório de Oncologia, São Paulo. 2021.
- AL MONLA, Reem *et al.* Fucoidan and alginate from the brown algae *Colpomenia sinuosa* and their combination with vitamin C trigger apoptosis in colon cancer. *Molecules*, v. 27, n. 2, p. 358, 2022.
- ALVES, Antônio Willame da Silva *et al.* *Codium isthmocladum* lectin 1 (CiL-1): Interaction with N-glycans explains antinociceptive and anti-inflammatory activities in adult zebrafish (*Danio rerio*). **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 208, p. 1082-1089, 2022.

ALVES, E. A.; GUIMARÃES, A. C. R. Cultivo celular. In: MOLINARO, E. M.; CAPUTO, L. F. G.; AMENDOEIRA, M. R. R. A. (orgs.). **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde**. Rio de Janeiro: EPSJV, IOC, 2010. v. 2, p. 215-253.

ANAM, C. *et al.* Cytotoxicity of crude lectins from red macroalgae from the southern coast of Java island, Gunung Kidul Regency, Yogyakarta, Indonesia. In: **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**. IOP Publishing, 2017. p. 012017.

ANDRADE, Victor Piana de. A crise está aí: o custo do câncer para a sociedade. **A.C Camargo Cancer Center**. São Paulo, São Paulo. 2023.

AUNG, Thazin Nwe *et al.* Understanding the effectiveness of natural compound mixtures in cancer through their molecular mode of action. **International journal of molecular sciences**, v. 18, n. 3, p. 656, 2017.

AUSAWASAMRIT, Apisara *et al.* Lupalbigenin from *Derris scandens* sensitizes detachment-induced cell death in human lung cancer cells. **Anticancer Research**, v. 35, n. 5, p. 2827-2834, 2015.

BARRE, Annick *et al.* Mannose-specific lectins from marine algae: diverse structural scaffolds associated to common virucidal and anti-cancer properties. **Marine drugs**, v. 17, n. 8, p. 440, 2019.

BARRECA, Marilia *et al.* Marine anticancer agents: An overview with a particular focus on their chemical classes. **Marine drugs**, v. 18, n. 12, p. 619, 2020.

BEKTAS, Suna; KAPTAN, Engin. Therapeutic potential of lectins in the treatment of breast cancer: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, p. 126073, 2023.

BRAY, Freddie *et al.* The ever-increasing importance of cancer as a leading cause of premature death worldwide. **Cancer**, v. 127, n. 16, p. 3029-3030, 2021.

BRAY, Freddie *et al.* Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 74, n. 3, p. 229-263, 2024.

BRIX, N. *et al.* Analysis of clonogenic growth in vitro. *Nature protocols*, [s. l.], v. 16, n. 11, p. 4963-4991, 2021.

BURLOT, Anne-Sophie *et al.* Concise review of the genus *Solieria* J. Agardh, 1842. **Journal of Applied Phycology**, v. 35, n. 3, p. 961-982, 2023.

CAMINHA, Iusta *et al.* Impact of the COVID-19 pandemic on the diagnosis of lung cancer in northeastern Brazil. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 48, p. e20220248, 2022.

CARIO, Anaïs; OLIVER, Gina C.; ROGERS, Karyn L. Exploring the deep marine biosphere: challenges, innovations, and opportunities. **Frontiers in Earth Science**, v. 7, p. 225, 2019.

CARNEIRO, Rômulo Farias *et al.* Halilectin 1 (H-1) and Halilectin 2 (H-2): two new lectins isolated from the marine sponge *Haliclona caerulea*. **Journal of Molecular Recognition**, v. 26, n. 1, p. 51-58, 2013a.

CARNEIRO, Rômulo Farias *et al.* H-3, a new lectin from the marine sponge *Haliclona caerulea*: Purification and mass spectrometric characterization. **The international journal of biochemistry & cell biology**, v. 45, n. 12, p. 2864-2873, 2013b.

CARNEIRO, Rômulo Farias *et al.* Isolation, biochemical characterization and antibiofilm effect of a lectin from the marine sponge *Aplysina lactuca*. **International journal of biological macromolecules**, v. 99, p. 213-222, 2017.

CARNEIRO, R. F. *et al.* New lectins from *Codium isthmocladum* Vickers show unique amino acid sequence and antibiofilm effect on pathogenic bacteria. *Journal of Applied Phycology*, v. 32, p. 4263–4276, 2020.

CARNEIRO, E. C. *et al.* Experiences of family members of women with breast cancer: an integrative review. *Research, Society and Development, [S. l.]*, v. 9, n. 7, p. e76973483, 2020.

CARVALHO, Hernandes F.; RECCO-PIMENTEL, Shirlei M. A célula 4a ed. . 4.ed. Barueri: Manole, 2019. E-book. pág.576. ISBN 9786555762396. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9786555762396/>

CATANZARO, E. *et al.* Antitumor Potential of Marine and Freshwater Lectins. *Marine Drug*, v. 18, p.1-11, 2019.

CHEN, Peixin *et al.* Non-small cell lung cancer in China. **Cancer Communications**, v. 42, n. 10, p. 937-970, 2022.

CHEN, Simiao *et al.* Estimates and projections of the global economic cost of 29 cancers in 204 countries and territories from 2020 to 2050. **JAMA oncology**, v. 9, n. 4, p. 465-472, 2023.

CHETTRI, Dixita *et al.* Lectins: Biological significance to biotechnological application. **Carbohydrate Research**, v. 506, p. 108367, 2021.

CHOOCHUAY, Kanuengnit *et al.* Imperatorin sensitizes anoikis and inhibits anchorage-independent growth of lung cancer cells. **Journal of natural medicines**, v. 67, p. 599-606, 2013.

CINCIN, Zeynep Birsu *et al.* Anti-proliferative, apoptotic and signal transduction effects of hesperidin in non-small cell lung cancer cells. **Cellular Oncology**, v. 38, p. 195-204, 2015.

COSTA, F. H. F. *et al.* Marine Alga *Amansia multifida*. **Physiol. Mol. Biol. Plants**, v. 553, p. 61, 1999.

CIFTCI, H.I. *et al.* Anticancer activity of Turkish marine extracts: A purple sponge extract induces apoptosis with multitarget kinase inhibition activity. **Investigational New Drugs**, v. 38, n. 5, p. 1326-1333, 2020.

CHAVES, Renata Pinheiro *et al.* *Meristiella echinocarpa* lectin (MEL): A new member of the OAAH-lectin family. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, p. 2629-2638, 2018a.

CHAVES, Renata Pinheiro *et al.* Structural characterization of two isolectins from the marine red alga *Solieria filiformis* (Kützinger) PW Gabrielson and their anticancer effect on MCF-7 breast cancer cells. **International journal of biological macromolecules**, v. 107, p. 1320-1329, 2018b.

CHAVES, Renata Pinheiro *et al.* Structural study and antimicrobial and wound healing effects of lectin from *Solieria filiformis* (Kützinger) PW Gabrielson. **Biochimie**, v. 214, p. 61-76, 2023.

CORREIA, Sarah Elizabeth Gomes. Estudos de interação entre lectinas do tipo ConA e glicanos presentes na proteína Spike do novo Coronavírus. 2022. 50 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia de Recursos Naturais) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022.

DÍAZ-TAPIA, Pilar *et al.* Morphological evolution and classification of the red algal order Ceramiales inferred using plastid phylogenomics. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 137, p. 76-85, 2019.

DUARTE, Jéssica de Assis *et al.* Structural characterization of a galectin from the marine sponge *Aplysina lactuca* (ALL) with synergistic effects when associated with antibiotics against bacteria. **Biochimie**, v. 214, p. 165-175, 2023.

DYSHLOVOY, Sergey A.; HONECKER, Friedemann. Marine compounds and cancer: Updates 2022. **Marine Drugs**, v. 20, n. 12, p. 759, 2022.

ECHAVE, Javier *et al.* Seaweed-derived proteins and peptides: promising marine bioactives. **Antioxidants**, v. 11, n. 1, p. 176, 2022.

EHRlich, Gunnar *et al.* The Total Synthesis of (+)-Tedanolide—A Macrocyclic Polyketide from Marine Sponge *Tedania ignis*. **Chemistry—A European Journal**, v. 14, n. 7, p. 2232-2247, 2008.

FAUVILLE, Géraldine *et al.* Development of the International Ocean Literacy Survey: measuring knowledge across the world. **Environmental Education Research**, v. 25, n. 2, p. 238-263, 2019.

FERLAY, J. *et al.* Cancer statistics for the year 2020: an overview. *International Journal of Cancer*, New York, Apr. 2021. DOI 10.1002/ijc.33588.

FERNANDES, M. R. C. C.; LUZ, G. O. de A.; LIMA, C. C. M. de; LIMA, L. C. M. de; SANTOS, S. R. dos; FRANÇA, I. S. X. de. Oral cancer: voice and quality of life after mutilation / Câncer bucal: voz e qualidade de vida pós mutilação. **Revista de Pesquisa Cuidado é Fundamental Online**, [S. l.], v. 13, p. 1082–1088, 2021.

FERREIRA, Hugo J. *et al.* Molecular mechanisms involved in the antitumor activity of isolated lectins from marine organisms: A systematic review. *Current Drug Targets*, v. 21, n. 6, p. 616-625, 2020.

FONSECA, V.J.A. *et al.* Lectins ConA and ConM extracted from *Canavalia ensiformis* (L.) DC and *Canavalia rosea* (Sw.) DC inhibit planktonic *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. **Archives of Microbiology**, v. 204, n. 6, p. 1-11, 2022.

FONTENELLE, T.P.C. *et al.* Lectin obtained from the red seaweed *Bryothamnion triquetrum*: Secondary structure and anti-inflammatory activity in mice. **International journal of biological macromolecules**, v. 112, p. 1122-1130, 2018.

FRANKEN, N. A. *et al.* Clonogenic assay of cells in vitro. *Nature protocols*, [s. l.], v. 1, n. 5, p. 2315, 2006.

FUJII, Y. *et al.* Internalização de uma nova e enorme lectina de *Ibicus novemdentatus* (lagosta-chinelo) induz apoptose de células cancerígenas de mamíferos. *Glycoconjugate journal*, v. 34, p. 85-94, 2017.

GALLEGO-JARA, Julia *et al.* A compressive review about Taxol®: History and future challenges. **Molecules**, v. 25, n. 24, p. 5986, 2020.

GANTI, Apar Kishor *et al.* Update of incidence, prevalence, survival, and initial treatment in patients with non-small cell lung cancer in the US. **JAMA oncology**, v. 7, n. 12, p. 1824-1832, 2021.

GARUTTI, Mattia *et al.* Hereditary cancer syndromes: a comprehensive review with a visual tool. **Genes**, v. 14, n. 5, p. 1025, 2023.

HANAHAN, Douglas. Marcas do câncer: novas dimensões. **Cancer discovery**, v. 12, n. 1, p. 31-46, 2022.

HAN, Bing-Nan *et al.* Natural products from sponges. In: **Symbiotic Microbiomes of Coral Reefs Sponges and Corals**. Springer, Dordrecht, 2019. p. 329-463.

HAPSARI, P.; YASMAN, Y. Antioxidant activity of extract of feather star *Capillaster sentosus* collected from Kepulauan Seribu National Park, Jakarta. In: **AIP Conference Proceedings**. AIP Publishing LLC, 2019. p. 020088.

HAYASHI, Keita *et al.* Active targeting to osteosarcoma cells and apoptotic cell death induction by the novel lectin *Eucheuma serra* agglutinin isolated from a marine red alga. **Journal of drug delivery**, v. 2012, n. 1, p. 842785, 2012.

HUANG, J. *et al.* Extracellular matrix and its therapeutic potential for cancer treatment. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 6, n. 1, p. 1-24, 2021.

HUANG, Min; LU, Jin-Jian; DING, Jian. Natural products in cancer therapy: Past, present and future. **Natural products and bioprospecting**, v. 11, n. 1, p. 5-13, 2021.

HUNG, Le Dinh; TRINH, Phan Thi Hoai. Structure and anticancer activity of a new lectin from the cultivated red alga, *Kappaphycus striatus*. *Journal of natural medicines*, v. 75, p. 223-231, 2021.

IBRAHIM, Tengku Azmi Tengku *et al.* Changes in rats' breast tumor ultrastructure and immune and messenger RNA responses caused by dietary Seaweed (*Kappaphycus alvarezii*) extract. **Journal of Microscopy and Ultrastructure**, v. 5, n. 2, p. 70-81, 2017.

INCA, Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2023: Incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. – Rio de Janeiro: INCA, 2022a.

INCA, Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. O que é o Câncer?. Rio de Janeiro: INCA, 2022b.

INCA, Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Como surge o câncer? Rio de Janeiro: INCA, 2022c

IQVIA, Institute for Human Data Science. Global Oncology Trends 2018: Outlook to 2028. 2024.

JANANI, Gopalarethinam *et al.* Unveiling the role of nano-formulated red algae extract in cancer management. *Molecules*, v. 29, n. 9, p. 2077, 2024.

KAZŁOWSKA, Katarzyna *et al.* In vitro and in vivo anticancer effects of sterol fraction from red algae *Porphyra dentata*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2013, n. 1, p. 493869, 2013.

KOCH, Caroline Nathasha *et al.* Homem e câncer: Estigmas do masculino no adoecimento. **Scientific Electronic Archives**, v. 17, n. 3, 2024.

KUMAR, Vinay. **Robbins Patologia Básica** . Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2018. *E-book*. ISBN 9788595151895. Disponível em:  
<https://app.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788595151895/>

LEE, Jei Ha *et al.* Anticancer activity of mannose-specific lectin, BPL2, from marine green alga *Bryopsis plumosa*. **Marine Drugs**, v. 20, n. 12, p. 776, 2022.

LEITER, Amanda; VELUSWAMY, Rajwanth R.; WISNIVESKY, Juan P. The global burden of lung cancer: current status and future trends. **Nature reviews Clinical oncology**, v. 20, n. 9, p. 624-639, 2023.

LIU, Feng *et al.* Clerodane diterpenoids isolated from the leaves of *Casearia graveolens*. **Journal of natural products**, v. 83, n. 1, p. 36-44, 2020.

MANFRA, Loredana *et al.* Lethal and sublethal endpoints observed for *Artemia* exposed to two reference toxicants and an ecotoxicological concern organic compound. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 123, p. 60-64, 2016.

MARQUES, Dayara Normando *et al.* Antibacterial activity of a new lectin isolated from the marine sponge *Chondrilla caribensis*. **International journal of biological macromolecules**, v. 109, p. 1292-1301, 2018.



MARQUES, Nelson Pereira *et al.* Cancer diagnosis in Brazil in the COVID-19 era. In: **Seminars in oncology**. WB Saunders, 2021. p. 156-159.

MARTINS, Ana Cristina Rodrigues *et al.* Avaliação da toxicidade das tinturas de aroeira e de romã através do bioensaio com *Artemia salina*. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 10, n. 3, pág. e52010313751-e52010313751, 2021.

MATHIAS, Clarissa *et al.* Lung cancer in Brazil. **Journal of Thoracic Oncology**, v. 15, n. 2, p. 170-175, 2020.

MENEZES, Vinícius Paulino Pinto. Estudo estrutural e avaliação do efeito antibacteriano de três lectinas de algas marinhas vermelhas da família OAAH em combinação com antibióticos. 2024. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Pesca) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2024.

MESQUITA, Jacilane Ximenes *et al.* Lectin from red algae *Amansia multifida* Lamouroux: Extraction, characterization and anti-inflammatory activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 170, p. 532-539, 2021.

MOFEED, Jelan *et al.* In vitro anticancer activity of five marine seaweeds extract from Egypt against human breast and colon cancer cell lines. 2021.

MORAIS, Shabna Roupal *et al.* Anticancer potential of *Spirastrella pachyspira* (marine sponge) against SK-BR-3 human breast cancer cell line and in silico analysis of its bioactive molecule sphingosine. **Frontiers in Marine Science**, v. 9, p. 950880, 2022.

MIN, Hye-Young; LEE, Ho-Young. Mechanisms of resistance to chemotherapy in non-small cell lung cancer. **Archives of pharmacal research**, v. 44, n. 2, p. 146-164, 2021.

MUNKLEY, Jennifer; ELLIOTT, David J. Marcas da glicosilação no câncer. **Oncotarget**, v. 7, n. 23, p. 35478, 2016.

NAEEM, Abid *et al.* Natural products as anticancer agents: current status and future perspectives. **Molecules**, v. 27, n. 23, p. 8367, 2022.

NAMKAEW, Jirapat *et al.* Combined effects of curcumin and doxorubicin on cell death and cell migration of SH-SY5Y human neuroblastoma cells. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal**, v. 54, p. 629-639, 2018.

NASCIMENTO-NETO, Luiz Gonzaga do *et al.* Characterization of isoforms of the lectin isolated from the red algae *Bryothamnion seaforthii* and its pro-healing effect. **Marine drugs**, v. 10, n. 9, p. 1936-1954, 2012.

NASCIMENTO-NETO, Luiz Gonzaga do *et al.* Halilectin-3, a lectin from the marine sponge *Haliclona caerulea*, induces apoptosis and autophagy in human breast cancer MCF7 cells through caspase-9 pathway and LC3-II protein expression. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)**, v. 18, n. 4, p. 521-528, 2018.

NEIS, Alessandra. Lectina quimérica biespecífica: estratégia terapêutica para o câncer de pâncreas. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Pelotas. 2024.

NEVES, S. A. *et al.* Antinociceptive properties in mice of a lectin isolated from the marine alga *Amansia multifida* Lamouroux. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 40, p. 127–134, 2007.

NEWMAN, David J.; CRAGG, Gordon M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of natural products**, v. 83, n. 3, p. 770-803, 2020.

NOORELDEEN, Reem; BACH, Horacio. Current and future development in lung cancer diagnosis. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 16, p. 8661, 2021.

OPAS. Organização Pan-Americana da Saúde. Câncer. 2020.

ÖZTÜRK, Yasin *et al.* Resveratrol enhances apoptotic and oxidant effects of paclitaxel through TRPM2 channel activation in DBTRG glioblastoma cells. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2019, n. 1, p. 4619865, 2019.

PINHEIRO, A. A. Efeito pró-cicatrizante da lectina isolada da alga marinha vermelha *Bryothamnion triquetrum* no tratamento de feridas induzidas em modelos experimentais in vitro e in vivo. 2021. 53 f. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2021. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/61241>. Acesso em: 15 out. 2021.

PINTO, V. *et al.* Lectins from the red marine algal species *Bryothamnion seaforthii* and *Bryothamnion triquetrum* as tools to differentiate human colon carcinoma cells. **Advances in pharmacological sciences**, v. 2009, 2009.

PRABAKARAN, Gopal *et al.* Extraction and characterization of phycocyanin from *Spirulina platensis* and evaluation of its anticancer, antidiabetic and antiinflammatory effect. **International journal of biological macromolecules**, v. 153, p. 256-263, 2020.

PREMARATHNA, A.D. *et al.* In vitro and in vivo evaluation of the wound healing properties and safety assessment of two seaweeds (*Sargassum ilicifolium* and *Ulva lactuca*). **Biochemistry and biophysics reports**, v. 26, p. 100986, 2021.

RABELO, Luciana *et al.* A lactose-binding lectin from the marine sponge *Cinachyrella apion* (Cal) induces cell death in human cervical adenocarcinoma cells. *Marine drugs*, v. 10, n. 4, p. 727-743, 2012.

RIFI, Mariam *et al.* The Lebanese Red Algae *Jania rubens*: Promising Biomolecules against Colon Cancer Cells. **Molecules**, v. 27, n. 19, p. 6617, 2022.

SALEH, Ayman M. *et al.* In vitro cytotoxicity of *Artemisia vulgaris* L. essential oil is mediated by a mitochondria-dependent apoptosis in HL-60 leukemic cell line. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 14, p. 1-15, 2014.

SALI, Veeresh Kumar *et al.* Isolation and evaluation of phytoconstituents from red alga *Acanthophora spicifera* as potential apoptotic agents towards A549 and HeLa cancer cells lines. **Algal research**, v. 32, p. 172-181, 2018.

SANTIAGO, Mayara Queiroz de. Análise estrutural da lectina de *Dioclea lasiocarpa*: uma proteína indutora de apoptose em células de glioma da linhagem C6. 2021. 98 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia de Recursos Naturais) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022.

SANTOS, A. F. S. *et al.* Lectins: Function, structure, biological properties and potential applications. **Curr Top Pept Protein Res**, v. 15, p. 41-62, 2014.

SANTOS, M. de O. *et al.* Estimativa de Incidência de Câncer no Brasil, 2023-2025. Revista Brasileira de Cancerologia, [S. l.], v. 69, n. 1, p. e–213700, 2023. DOI: 10.32635/2176-9745.RBC.2023v69n1.3700. Disponível em: <https://rbc.inca.gov.br/index.php/revista/article/view/3700>.

SANTOS, W. V. Correlação entre estrutura fractal do citoesqueleto e a viscoelasticidade de fibroblastos. 2022. 64 f. Dissertação (Mestrado em Física) – Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022.

SCHNEIDER, Katherine *et al.* Li-fraumeni syndrome. **GeneReviews®[Internet]**, 2024.

SENTHILKUMAR, Dharmaraj; JAYANTHI, Sivaraman. Partial characterization and anticancer activities of purified glycoprotein extracted from green seaweed *Codium decortcatum*. **Journal of Functional Foods**, v. 25, p. 323-332, 2016.

SHIOMI, Kazuo; KAMIYA, Hisao; SHIMIZU, Yuzuru. Purification and characterization of an agglutinin in the red alga *Agardhiella tenera*. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure**, v. 576, n. 1, p. 118-127, 1979.

SI, Wengong *et al.* The role and mechanisms of action of microRNAs in cancer drug resistance. **Clinical epigenetics**, v. 11, p. 1-24, 2019.

SILVA, Suzete Roberta da. Caracterização da lectina da alga marinha vermelha *Amansia multifida* J. V. Lamouroux por espectrometria de massa. 2010. 56 f. TCC (Graduação em Engenharia de Pesca) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

SIMÃO, Fernanda Cristina dos Santos. Custo do Câncer no SUS. Observatório de Oncologia, São Paulo. 2024. Disponível em: <https://observatoriodeoncologia.com.br/estudos/tratamento-em-oncologia/2024/custo-do-cancer-no-sus/>

SINGH, Ram Sarup; WALIA, Amandeep Kaur. Lectins from red algae and their biomedical potential. **Journal of applied phycology**, v. 30, p. 1833-1858, 2018.

SIVALINGAM, Kalai Selvi *et al.* Neferine potentiates the antitumor effect of cisplatin in human lung adenocarcinoma cells via a mitochondria-mediated apoptosis pathway. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 118, n. 9, p. 2865-2876, 2017.

SM, Fazeela Mahaboob Begum et al. *Gelidiella acerosa* inhibits lung cancer proliferation. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 18, p. 1-14, 2018.

SUGAHARA, Takuya *et al.* The cytotoxic effect of *Eucheuma serra* agglutinin (ESA) on cancer cells and its application to molecular probe for drug delivery system using lipid vesicles. *Cytotechnology*, v. 36, p. 93-99, 2001.

SUNG, Hyuna *et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, v. 71, n. 3, p. 209-249, 2021.

SWARNA, R.R. *et al.* Antiproliferative and Antimicrobial Potentials of a Lectin from *Aplysia kurodai* (Sea Hare) Eggs. *Marine drugs*, v. 19, n. 7, p. 394, 2021.

TAKAYASU, Bianca Sayuri. **Estudo comparativo dos efeitos citotóxicos de  $\beta$ -sitosterol e  $\beta$ -secosterol em células tumorais e não tumorais de fígado de rato**. 2024. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular, Tecidual e do Desenvolvimento) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2024.

TALIB, Wamidh H.; AL KURY, Lina T. Parthenolide inhibits tumor-promoting effects of nicotine in lung cancer by inducing P53-dependent apoptosis and inhibiting VEGF expression. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 107, p. 1488-1495, 2018.

TALIB, W.H. *et al.* Targeting drug chemo-resistance in cancer using natural products. *Biomedicines*, v. 9, n. 10, p. 1353, 2021.

TEIXEIRA, E.H. *et al.* **Aplicações biológicas de plantas e lectinas de algas: uma visão geral**. Intech Open, 2012.

VAN HERCK, Yannick *et al.* Is cancer biology different in older patients?. *The Lancet Healthy Longevity*, v. 2, n. 10, p. e663-e677, 2021.

VARIJAKZHAN, Disha *et al.* Bioactive compounds from marine sponges: Fundamentals and applications. *Marine drugs*, v. 19, n. 5, p. 246, 2021.

WANG, Ying *et al.* Cryptotanshinone sensitizes antitumor effect of paclitaxel on tongue squamous cell carcinoma growth by inhibiting the JAK/STAT3 signaling pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 95, p. 1388-1396, 2017.

WHO. World Health Organization. Global Cancer Observatory. International Agency for Research on Cancer. Cancer Today. 2022.

XU, Tongli *et al.* In silico discovery and anti-tumor bioactivities validation of an algal lectin from *Kappaphycus alvarezii* genome. *International Journal of Biological Macromolecules*, p. 133311, 2024.

YANG, Yeong-In *et al.* Tectorigenin sensitizes paclitaxel-resistant human ovarian cancer cells through downregulation of the Akt and NF $\kappa$ B pathway. *Carcinogenesis*, v. 33, n. 12, p. 2488-2498, 2012.

YANG, Yue *et al.* Natural products with activity against lung cancer: a review focusing on the tumor microenvironment. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 19, p. 10827, 2021.

YANG, Xinyan *et al.* Adenovirus carregando gene que codifica lectina de ligação ao ácido siálico de *Haliotis discus discus* induz apoptose de células cancerígenas. *Marine drugs*, v. 12, n. 7, p. 3994-4004, 2014.

YU, Xiaojie *et al.* Effect of ultrasonic treatment on the degradation and inhibition cancer cell lines of polysaccharides from *Porphyra yezoensis*. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 650-656, 2015.

WU, Liqin *et al.* Exogenous expression of marine lectins DIFBL and SpRBL induces cancer cell apoptosis possibly through PRMT5-E2F-1 pathway. *Scientific reports*, v. 4, n. 1, p. 4505, 2014.