

Avaliação da capacidade carcinogênica do extrato aquoso de café, em células somáticas de *Drosophila melanogaster*

Assessment of the carcinogenic capacity of commercial aqueous extract of coffee arabica in somatic cells of *Drosophila melanogaster*

Larissa Sousa Oliveira¹ , Thays Cunha Vieira¹ , Cássio Resende de Moraes^{2,3} 

1. Licenciada em Ciências Biológicas pela Fundação Carmelitana Mário Palmério (FUCAMP), Monte Carmelo, MG, Brasil. 2. Doutor em Genética e Bioquímica, pela Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, MG, Brasil. 3. Docente do curso de Ciências Biológicas pela Fundação Carmelitana Mário Palmério (FUCAMP), Monte Carmelo, MG, Brasil.

Resumo

Objetivo: devido ao consumo rotineiro do café pela população brasileira, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o potencial carcinogênico de diferentes concentrações do café (*Coffea arabica*), por meio do Teste para Detecção de Tumor Epitelial em *Drosophila melanogaster*. **Métodos:** para avaliar o efeito carcinogênico do café, larvas de 3º estágio descendentes do cruzamento entre fêmeas virgens wts/TM3, sb¹ e machos mwh/mwh foram tratadas com diferentes concentrações de café comercial (100; 50; 25; 12,5 e 6,26 mg/mL). Após a exposição (48h) e o processo de metamorfose, as moscas adultas foram analisadas quanto à presença de tumor epitelial, e os grupos tratados foram comparados com o controle negativo (água ultrapura). A toxicidade do café foi mensurada por meio da taxa de moscas que sobreviveram a etapa de metamorfose após exposição. **Resultados:** foi observado diferença estatisticamente significativa na taxa de sobrevivência ($p < 0,05$) e na frequência de tumor epitelial total ($p < 0,05$) em moscas tratadas com 100 mg/mL de café, quando comparado ao controle negativo. **Conclusões:** o café, na concentração de 100 mg/mL, foi tóxico e carcinogênico para *D. melanogaster*.

Palavras-chave: Café. Carcinogenicidade. Genotoxicidade.

Abstract

Objective: Due to the routine consumption of coffee by the Brazilian population, the present work aims to evaluate the carcinogenic potential of different concentrations of coffee (*Coffea arabica*) through the Test for Epithelial Tumor Detection in *Drosophila melanogaster*. **Methods:** In order to evaluate the carcinogenic effect of coffee, third-stage larvae descended from the cross between virgin females wts/TM3, sb¹ and males mwh/mwh were treated with different concentrations of commercial coffee (100, 50, 25, 12, 26 mg/mL). After exposure (48h) and the metamorphosis process, the adult flies were analyzed for the presence of an epithelial tumor and the treated groups were compared with the negative control (ultrapure water). Coffee toxicity was measured by the rate of flies that survived the post-exposure metamorphosis stage. **Results:** A statistically significant difference was observed in survival rate ($p < 0.05$) and frequency of total epithelial tumor ($p < 0.05$) in flies treated with 100 mg/mL of coffee, when compared to the negative control. **Conclusions:** Coffee at the concentration of 100 mg/mL was toxic and carcinogenic to *D. melanogaster*.

Key words: Coffee. Carcinogenicity. Genotoxicity.

INTRODUÇÃO

O café compreende plantas de aspecto arbustivo pertencentes à família das Rubiaceae e ao gênero *Coffea*¹. Trata-se de uma das matérias-primas mais comercializada no Brasil e no comércio internacional. A grande aceitação do café se deve, principalmente, às suas propriedades organolépticas e seus efeitos estimulantes, o que têm atraído atenções no âmbito científico².

No Brasil, o café é uma espécie vegetal exótica que foi introduzida no país em 1727 e, em seguida, ganhou espaço na agricultura e passou a ser cultivada em quase todo o território brasileiro³.

Na economia brasileira, durante o século XIX e o início do século XX, o café foi o principal produto de exportação do

País, mantendo as divisas necessárias para a permanência do Império do Brasil e também da República Velha⁴.

Em um pequeno espaço de tempo, o Brasil tornou-se uma das maiores potências exportadoras de café, representando em 1845, 45% da produção mundial e contabilizando 80% das receitas cambiais³. Em 2016, fechou a colheita de café com 51,37 milhões de saca (60 Kg cada uma), tendo um aumento na produção de 18,8% em relação ao ano de 2015, de acordo com os números divulgados pela Companhia Nacional de Abastecimento (Conab)⁵.

O grão de café torrado possui, aproximadamente, 2000 compostos químicos; no entanto, sua composição química é bastante variável, dependendo da espécie utilizada, que se diferenciam pelo seu teor em diversos componentes

Correspondente: Cássio Resende de Moraes. Laboratório de Química e Bioquímica, Fundação Carmelitana Mário Palmério (FUCAMP). Avenida Brasil Oeste, s/n - Jardim Zenith II, Monte Carmelo - MG, 38500-000. E-mail: cassio.1015@hotmail.com
Recebido em: 11 Jan 2019; Revisado em: 23 Dez 2019; 4 Mar 2020 Aceito em: 6 Mar 2020

2 Avaliação da capacidade carcinogênica do extrato aquoso de café

como cafeína, minerais, compostos fenólicos, trigonelina, aminoácidos, aminas biogénicas, diterpenos, ácidos gordos, esteróis, β -carbolinas, entre muitos outros².

A composição química do café é bastante complexa, sendo a cafeína o principal componente. O consumo de doses baixas a moderadas da substância é capaz de causar efeitos no organismo humano, como melhoria do estado de alerta, aumento da disponibilidade de energia, da capacidade de concentração, do desempenho em tarefas simples, da vigilância auditiva, do tempo de retenção visual e da diminuição da sonolência e do cansaço².

O consumo da cafeína de forma moderada geralmente não apresenta nenhum risco à saúde, porém seu consumo em excesso ou por indivíduos sensíveis à substância pode induzir efeitos negativos como taquicardia, palpitações, insônias, ansiedade, tremores, dores de cabeça e náuseas. A lenta metabolização hepática da cafeína pelo complexo enzimático via citocromo P450 pode ser o fator responsável por esses efeitos fisiológicos no organismo².

Dados na literatura permanecem inconclusivos quanto à cinética do café e seus efeitos na integridade do DNA. Enquanto alguns autores defendem o café como um potente agente antioxidante, antígeno tóxico e anticarcinogênico^{6,7,8,9}, outros declaram os efeitos genotóxicos da bebida¹⁰.

Nesse sentido, avaliar o efeito de potenciais xenobióticos na integridade do material genético é de suma importância no intuito de prevenir doenças associadas à instabilidade genética¹¹.

Baseado na necessidade do rastreio da genotoxicidade, mutagenicidade e carcinogenicidade de diferentes substâncias de natureza química, diferentes testes e protocolos foram desenvolvidos para identificar danos discretos (mutações pontuais) e grosseiros (aberrações cromossômicas e eventos de aneuploidias) no DNA¹². Sendo assim, o uso de um organismo-modelo com características específicas intrínsecas (sensibilidade e resposta) é de suma importância no desenho de um teste que possa mensurar respostas, o mais próximas possíveis do homem (possibilidade de extrapolação).

A espécie *Drosophila melanogaster*, conhecida popularmente como “mosca da fruta”, é um versátil organismo-modelo usado em pesquisas científicas de Genética e Biologia do Comportamento e foi responsável por fornecer importantes informações em pesquisas científicas. Seu uso na genética toxicológica ganha força após o sequenciamento do genoma humano e a constatação da homologia de 75% dos genes associados a doenças entre o homem e a *Drosophila* sp¹³.

O Teste para Detecção de Tumor Epitelial em *D. melanogaster* é um teste baseado na perda da heterozigose do marcador wts (gene supressor de tumor homólogo ao gene LATS1 em humanos), que resulta na proliferação anormal de células neoplásicas no tegumento da mosca, quando o composto

testado é capaz de levar a perda da heterozigose^{14,15}. Desde sua padronização, o teste tem sido intensamente usado para rastrear potenciais xenobióticos com propriedade carcinogênica^{11,15,16}.

Em função da ampla utilização do café pela maioria da população brasileira e devido aos dados inconclusivos presentes na literatura científica, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o potencial carcinogênico de diferentes concentrações do café, por meio do Teste para Detecção de Tumor Epitelial em *Drosophila melanogaster*.

MATERIAL E MÉTODOS

Agentes químicos

O café Trevo de Minas (lote: 2178) foi produzido por produtos alimentícios Nosso Sabor LTDA, Monte Carmelo, Minas Gerais, Brasil. O produto foi adquirido em comércio local na própria cidade, onde a indústria desenvolve as suas atividades.

A Mitomicina C (CAS 50-07-7) foi utilizada como controle positivo nesta pesquisa. A formulação em pó liofilizado é fabricada por Kyowa Hakko Kirin Co. Ltda. Shizuoka (Japão), embalado por Bristol-Myers Squibb S.r.l Sermoneta-Latina-Itália e importado por Bristol-Myers Squibb Farmacêutico S.A.

Preparação do extrato aquoso de café

Neste trabalho, o preparo do extrato aquoso de café foi feito por método convencional. Em resumo, café comercial Trevo de Minas em pó foi colocado em filtro de papel (Jovita®) sob coador, e, em seguida, foram adicionados 200 mL de água quente (100°C). O pó usado foi, em seguida, descartado, e o extrato aquoso após resfriamento (temperatura ambiente), usado nos experimentos. No presente trabalho, foram preparadas cinco soluções de café nas concentrações de 100; 50; 25; 12,5 e 6,25 mg/mL para os ensaios biológicos.

Teste para Detecção de Tumor Epitelial em *Drosophila Melanogaster*

Linhagens de *Drosophila*, cruzamento e tratamento

D. melanogaster pertence à Classe dos insetos, ordem Diptera e, por ser classificado como invertebrado, não necessita de licença perante o comitê de ética para pesquisa com animais. Neste trabalho, foram utilizadas duas linhagens mutantes de *D. melanogaster*: (1) multiple wing hairs (mwh 3-0,3) e (2) warts (wts,3-100).

A linhagem multiple wing hairs é mantida em homozigose recessiva para o marcador mwh no cromossomo 3 em posição distal em relação ao centrômero. De forma diferente do fenótipo selvagem que produz um único pelo por célula, o gene mwh em homozigose recessiva produz fenótipo de pelo nas asas da mosca em formato múltiplo.

A linhagem warts é mantida em hemizigose na presença do

balanceado cromossômico TM3, Sb¹, no cromossomo 3. O gene warts atua como gene supressor de tumor quando expresso na condição selvagem, controlando o ciclo celular, impedindo a instalação de células cancerígenas.

Nesse sentido, a manifestação de tumor epitelial no corpo e apêndices da mosca pode ocorrer, caso haja deleção desse gene (agentes físicos, químicos ou biológicos) e a expressão do alelo recessivo, formando clones de células que são consideradas altamente invasivas.

Essas linhagens foram mantidas em estoque, em frascos contendo 1/4 meio de cultura a base de banana (1230 mL de água; 16,5 g de açúcar; 234 g de banana; 37,5 g de fermento biológico e 1,5 g de nipagin em pó) em estufa B.O.D (SOLAB) em ciclos claro-escuros (12h:12h) na temperatura de 25 ± 2°C e 65 ± 5% de umidade relativa.

Foi realizado o cruzamento entre machos mwh/mwh e fêmeas virgens da linhagem wts, [1] in [1] kni [ri-1] p [p] wts [3-17]/TM3,Sb [1]. Nesse cruzamento, foram geradas as progenies MH - trans-heterozigoto marcado (mwh +/+wts) e progênie BH - heterozigoto balanceado (mwh +/+TM3, Sb¹). No teste wts, apenas a progênie MH é analisada. A expressão do balanceador cromossômico resulta em fenótipo de pelos curtos e espessos no corpo da mosca. Já na progênie MH, ocorre o contrário, com fenótipo de pelos longos e finos, sendo feita, dessa forma, a identificação da progênie.

Após cruzamento mwh +/+mwh x wts+/TM3, Sb¹, foi feita a coleta de embriões dentro do período de 8 horas em frascos, contendo o meio de cultura à base de açúcar (4%) e fermento biológico suplemento com sacarose. Larvas de 3º estágio (72±4 horas de desenvolvimento) foram lavadas com água obtida por sistema de osmose reverse e, em seguida, foram coletadas com auxílio de peneira de malha fina. Logo depois da coleta, as larvas foram submetidas a tratamento crônico (48 horas). As larvas foram colocadas em vials (2,5 cm de diâmetro por 8 cm de comprimento) contendo 1,5 g de purê de batatas (Yoki® Alimentos S.A) hidratadas com 5 mL de solução de café nas concentrações 100; 50; 25; 12,5 e 6,25 mg/mL.

Água obtida por sistema de osmose reverse foi usada como controle negativo. Mitomicina C (MMC) na concentração de 0,1mM (3,33 mg/mL) (exposição durante 6 horas) foi utilizada como controle positivo. Essa concentração é baseada em estudos de recombinação mitótica em *D. melanogaster* e ensaios de carcinogênese^{11,15,16}.

Fixação de moscas e análise de tumor epitelial

Adultos eclodidos do cruzamento mwh +/+mwh x wts +/TM3,Sb¹ foram fixados em etanol 70% (v/v) e analisados sobre lupa estereoscópica (Bel® Photonics) em placa de petri com glicerina. Os dados foram expressos em forma de diagrama padrão, expressando os números de tumores observados em cada apêndice da mosca (olhos, cabeça, corpo, asas, pernas e halteres).

Ensaio de sobrevivência

Vinte larvas de 3º estágio descendentes do cruzamento entre machos da linhagem mwh/mwh com fêmeas virgens da linhagem wts, [1] in [1] kni [ri-1] p [p] wts [3-17]/TM3,Sb [1] foram transferidas para vials (2,5 cm de diâmetro por 8 cm de comprimento), contendo 1,5 g de purê de batatas (Yoki® Alimentos S.A) e 5 mL de solução de café nas concentrações 100; 50; 25; 12,5 e 6,25 mg/mL. A taxa de sobrevivência foi avaliada pela quantidade de larvas que, após o tratamento, passaram pelo processo de metamorfose e atingiram a fase adulta (imago).

Análise estatística

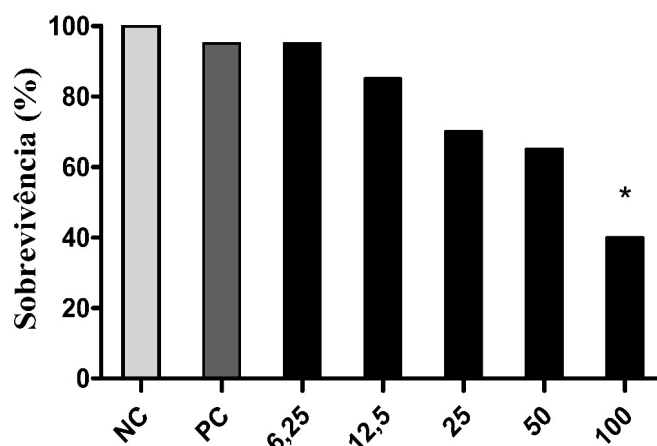
Foi usado o teste U não paramétrico de Mann-Whitney, utilizando o nível de significância $p < 0,005$ para calcular as diferenças estatísticas entre a frequência de tumores epiteliais nas moscas tratadas com café e os controles negativo e positivo. Comparações estatísticas referentes à taxa de sobrevivência das moscas tratadas com o café e os controles negativo e positivo foram feitas por meio do teste do Chi-quadrado para razões de amostras independentes.

RESULTADOS

Ensaio de sobrevivência

Na Figura 1, estão apresentados os resultados referentes à taxa de sobrevivência de *D. melanogaster* expostas a diferentes concentrações de café.

Figura 1. Taxas de sobrevivência dos descendentes de *Drosophila melanogaster* resultantes dos cruzamentos mwh/mwh e wts/TM3, sb¹, tratadas cronicamente com diferentes concentrações de café (colunas pretas). NC = Controle negativo (Água); PC = Controle positivo (Mitomicina C: 3,33 mg/mL)



Foi quantificada a frequência de tumor na cabeça, olhos, tórax, abdômen e todos os demais apêndices da mosca (pernas, asas e halteres), e as frequências de tumores das moscas tratadas com café ou mitomicina C foram comparadas com a frequência

4 Avaliação da capacidade carcinogênica do extrato aquoso de café

de tumor observadas nas moscas do grupo controle negativo, para estimar o potencial carcinogênico. Não foi observado relação dose dependência, e os resultados revelaram que o café concentrado (100 mg/mL) é capaz de levar à perda da heterozigose do marcador wts, sendo evidenciado, portanto, efeito carcinogênico.

Mitomomicina na concentração de 3,33 mg/mL (0,1 mM) induziu alta frequência de tumor epitelial, diferindo, estatisticamente, ($P < 0,05$) do controle negativo em todos os apêndices analisados nas moscas.

DISCUSSÃO

Na literatura, o teste wts tem demonstrado ser de grande eficiência no rastreio de xenobióticos com atividade carcinogênica e anticarcinogênica de diferentes compostos isolados e substâncias complexas^{11,15,16}.

Partindo da premissa que uma grande variedade de células cancerígenas são resultantes do acúmulo de mutações que escapam do mecanismo de reparo do DNA da célula, avaliar toxicocinética de substância usadas na alimentação, é de suma importância no intuito de prevenir doenças associadas à instabilidade genética.

Nesse sentido, no presente trabalho foram avaliadas a toxicidade e a carcinogenicidade de extratos de café torrado/moído de uso comercial em *D. melanogaster*. As concentrações testadas foram baseadas na concentração de uso recomendado pelo fabricante (25 mg/mL). Duas doses menos concentradas foram avaliadas (12,5 e 6,25 mg/mL). Devido ao consumo de café mais concentrado por uma parcela da população humana, neste trabalho, foram incluídas duas concentrações para estimar os efeitos de doses concentradas de café (100 e 50 mg/mL), sobre a toxicidade e a integridade do material genético. Os resultados apresentados mostram que o extrato de café na concentração de 100 mg/mL apresenta atividade tóxica e carcinogênica para *D. melanogaster*.

Desde a década de 80, o extrato do café tem sido intensamente estudado quanto a sua capacidade de induzir efeitos mutagênicos. A maioria dos pesquisadores usou, como

organismo modelo, Linhagens de *Salmonella* para rastreio da genocidade do café, por meio do teste Ames. Diferentes intervalos de tempo de exposição e concentrações confirmaram que o café ou compostos isolados do vegetal apresentam atividade mutagênica^{18,19, 20, 21, 22, 23}.

Em vertebrados, eventos genotóxicos/mutagênicos do café ou compostos isolados do vegetal também foram confirmados em alguns trabalhos. Em ratos, a exposição ao café resultou em alterações negativas confirmando danos citogenéticos por meio do Teste do micronúcleo em células HepG2²³.

Vários compostos presentes no café foram usados em tratamento isolado para verificar a contribuição desses nos danos no DNA. Muitos deles foram sugeridos como sendo a causa dos danos genéticos, entre eles, destacam-se a cafeína¹⁷, Trigolenina²², metais de transição²³, quercentina²⁴, ácido clorogênico, metilglioxal, ácido cafeico²⁰, compostos fenólicos²⁹ e o peróxido de hidrogênio²⁵.

Curiosamente, efeitos mutagênicos não foram observados na literatura em tratamentos envolvendo o café verde, o que leva a deduzir que a presença dos compostos mutagênicos presentes no café está relacionada com o processo de torrefação. Essa hipótese é suportada pelos resultados de Fujita et al³¹, na qual afirma que o peróxido de hidrogênio (potente agente mutagênico), surge no café, após torrefação e que a maior concentração é encontrada no café durante o preparo a 37 a 80°C (média de 500 a 750 µg de peróxido de hidrogênio em 150 mL de café). Efeitos mutagênicos no café, após torrefação, foram confirmados por outros autores^{26,27}.

Embora, no presente trabalho, não tenha sido quantificada a presença desses compostos no extrato do café, os resultados para toxicidade (figura 1) e carcinogenicidade (tabela 1) na concentração de 100 mg/mL em *D. melanogaster* pode ser resultante do aumento da concentração de algum desses compostos ou todos eles na concentração do extrato de café total (100 mg/mL). Embora os resultados sejam preocupantes devido ao consumo diário do café pelo homem, outros trabalhos devem ser conduzidos, haja vista que vários trabalhos também confirmam que vertebrados superiores não são afetados pelos componentes do café, devido, principalmente, à ativação do sistema de metabolização^{18,28,30}.

Tabela 1. Frequência de tumor epitelial observados em descendentes heterozigotos para o gene supressor de tumor wts de *D. melanogaster* tratados com diferentes concentrações de Café (CF) e Mitomicina-C (MMC).

Tratamento (mg/mL)	Número de indivíduos	Número de tumores analisados (total de tumores)						
		olhos	cabeça	asas	corpo	pernas	halteres	Total
Controle negativo	300	0,003 (01)	0,000 (00)	0,020 (06)	0,096 (29)	0,000 (00)	0,000 (00)	0,120 (36)
MMC 3,33	130	0,138 (18)*	0,115 (15)*	2,138 (278)*	0,823 (107)*	0,300 (39)*	0,046 (06)*	3,561 (463)*
CF 100	300	0,030 (09)*	0,010 (03)	0,040 (12)*	0,123 (37)*	0,033 (10)*	0,000 (00)	0,236 (71)*
CF 50	300	0,013 (04)	0,003 (01)	0,026 (08)	0,066 (20)	0,033 (01)	0,000 (00)	0,113 (34)
CF 25	300	0,000 (00)	0,000 (00)	0,030 (09)	0,093 (28)	0,000 (00)	0,000 (00)	0,123 (37)

Tratamento (mg/mL)	Número de indivíduos	Número de tumores analisados (total de tumores)							
		olhos	cabeça	asas	corpo	pernas	halteres	Total	
CF	12,5	300	0,000 (00)	0,000 (00)	0,006 (02)	0,100 (30)	0,050 (00)	0,000 (00)	0,100 (30)
CF	6,25	300	0,000 (00)	0,003 (01)	0,023 (07)	0,080 (24)	0,000 (00)	0,000 (00)	0,106 (32)

Diagnóstico estatístico de acordo com o teste de Mann-Whitney. Nível de significância ($P \leq 0,05$).

* Valores considerados diferentes do controle negativo ($P \leq 0,05$). MMC, Mitomicina C; CF: Café.

Além disso, atividade antioxidante do café já foi observada por diferentes autores^{32,33}, gerando a falta de consenso ao que diz respeito ao risco proporcionado pela bebida. O extrato aquoso da casca do café arábica demonstrou atuar como um potente agente antioxidante protetor contra danos genotóxicos induzidos pelo carcinógeno Benzo(a)Pireno em células HepG2³². Resultados semelhantes foram observados por outros autores^{33,34}.

Segundo Stadler et al³⁰ (1994), o café possui compostos mutagênicos e antioxidantes e que o tipo de preparo, e o sistema de metabolização (desintoxicação) diferencial entre os organismos podem levar a um desbalanço em uma dessas atividades, gerando uma proteção contra radicais livres (atividade antioxidante) ou deixar o organismo vulnerável a

eventos mutagênicos.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho permitem concluir que o extrato de café na concentração de 100 mg/mL, em *D. melanogaster* e nessas condições experimentais, é tóxico e carcinogênico. Outros trabalhos devem ser conduzidos, priorizando o uso de vertebrados em diferentes sistemas testes, visando a outras informações acerca da toxicocinética do café.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

- Silva SA, Hansen, DS. Cultura do Café [Internet]. 2005 [acesso em: 2018 Dez 21]. 35p. Disponível em: www.culturasregionais.ufba.br/Apostila%20café%20-%2035p..doc.
- Alves RC, Casal S, Oliveira B. Benefícios do café na Saúde: Mito ou realidade? Quím. Nova. 2009; 32(8): 2169-2180.
- Ormond JG, Paula SR, Faveret P Filho. Café: (re) conquista dos mercados. BND setorial. 1999; 1(10): 3-56.
- Pinto TS. "Raízes do café no Brasil"; Brasil Escola. [acesso em: 2018 Dez 21]. Disponível em: <http://brasilescola.uol.com.br/historia/o-cafe-no-brasil-suas-origens.htm>.
- Conab: Campanha Nacional de Abastecimento. Boletim da safra de café. [acesso em: 2020 Mar 05]. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe/boletim-da-safra-de-cafe?start=10>.
- Cavin, C, Holzhaeuser D, Scharf G, Constable A, Huber WW, Schilter B. Cafestol and kahweol, two coffee specific diterpenes with anticarcinogenic activity. Food Chem Toxicol. 2002 Aug; 40(8): 1155-1163. doi: [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(02\)00029-7](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(02)00029-7).
- Majer BJ, Hofer E, Cavin C, Lhoste E, Uhl M, Glatt HR, et al. Coffee diterpenes prevent the genotoxic effects of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) and N-nitrosodimethylamine in a human derived liver cell line (HepG2). Food Chem Toxicol. 2005; 43(3): 433-441. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2004.11.009>.
- Glei M, Kirmse A, Habermann N, Persin C, Pool-Zobel BL. Bread enriched with green coffee extract has chemoprotective and antigenotoxic activities in human cells. Nutr Cancer. 2006; 56(2): 182-192. doi: [10.1207/s15327914nc5602_9](https://doi.org/10.1207/s15327914nc5602_9).
- Kalthoff S, Landerer S, Reich J, Strassburg CP. Protective effects of coffee against oxidative stress induced by the tobacco carcinogen benzo[alpha]pyrene. Free Radic Biol Med. 2017 Jul; 108: 66-76. doi: [10.1016/j.freeradbiomed.2017.03.006](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.03.006).
- Duarte MP, Lares A, Gaspar J, Oliveira JS, Rueff J. Genotoxicity of instant coffee and of some phenolic compounds present in coffee upon nitrosation. Teratog Carcinog Mutagen. 2000; 20(4): 241-249. doi: [10.1002/1520-6866\(2000\)20:4<241::AID-TCM6>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/1520-6866(2000)20:4<241::AID-TCM6>3.0.CO;2-4).
- Morais, CR; Vieira, TC; Borges, RM; Guimarães, LMM; Barcelos, LA; Souza, FC; Pimentel, LS; Silva, JC; Vasconcelos, MA; Rodrigues, TS; Sousa, FA; Resende, AAA; Spanó, MA; Bonetti, AM. Assessment of carcinogenic potential of soft drinks cola, diet cola, orange and lemon, produced in the city of Uberlândia, Minas Gerais state, Brazil. Bioscience Journal. 2016; 32(4), 1025-1039. doi: <http://dx.doi.org/10.14393/BJ-v32n4a2016-32969>.
- Andrade HHR, Lehmann M. Teste para a detecção de mutação e recombinação somática (SMART) em *Drosophila melanogaster*. In: RIBEIRO RL, SALVADORI DMF, MARQUES EK. Mutagênese Ambiental. Canoas: ULBRA; 2003. v. 1, p.281-307.
- Kim SI, Jung JW, Ahn YJ, Restifo LL, Kwon HW. *Drosophila* as a model system for studying lifespan and neuroprotective activities of plant-derived compounds. J Asia Pac Entomol. 2011; 14(4): 509-517. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2011.07.001>.
- Xu T, Wang W, Zhang S, Stewart RA, Yu W. Identifying tumor suppressors in genetic mosaics: The *Drosophila* *lats* gene encodes a putative protein kinase. Development. 1995; 121(4): 1053-1063.
- Nepomuceno JC. Using the *Drosophila melanogaster* to assessment carcinogenic agents thought the Test for Detection of Epithelial Tumor Clones (Warts). Adv Technol Biol Med. 2015; 3: 2-8. doi: [10.4172/2379-1764.1000149](https://doi.org/10.4172/2379-1764.1000149).
- Orsolini PC, Silva-Oliveira RG, Nepomuceno JC. Assessment of the mutagenic, recombinogenic and carcinogenic potential of orlistat in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. Food Chem Toxicol. 2012; 50(8): 2598-2604. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.05.008>.
- Graf U, Abraham SK, Rincon JG, Wurgler FE. Antigenotoxicity studies in *Drosophila melanogaster*. Pesq. Mutação. 1997; 402: 203-209.
- Aeschbacher HU, Wolleb U, Loliger J, Spadone JC. Contribution of coffee aroma constituents to the mutagenicity of coffee. Food Chem Toxicol. 1989;

6 Avaliação da capacidade carcinogênica do extrato aquoso de café

27(4): 227-232. doi: [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(89\)90160-9](https://doi.org/10.1016/0278-6915(89)90160-9).

19. Albertini S, Friederich U, Schlatter C, Wurgler FE. The influence of roasting procedure on the formation of mutagenic compounds in coffee. *Food Chem Toxicol.* 1985 Jun; 23(6): 593- 597. doi: [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(85\)90184-X](https://doi.org/10.1016/0278-6915(85)90184-X).

20. Ariza RR, Dorado G, Barbancho M, Pueyo C. Study of the causes of direct-acting mutagenicity in coffee and tea using the Ara test in *Salmonella typhimurium*. *Mutat Res.* 1988 Sep; 201(1): 89-96. doi: [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(88\)90114-5](https://doi.org/10.1016/0027-5107(88)90114-5).

21. Kato T, Hiramoto K, Kikugawa K. Possible occurrence of new mutagens with the DNA breaking activity in coffee. *Mutat Res.* 1994 Apr; 306(1): 9- 17, 1994. doi: [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(94\)90163-5](https://doi.org/10.1016/0027-5107(94)90163-5).

22. Wu X, Skog K, Jagerstad M. Trigonelline, a naturally occurring constituent of green coffee beans behind the mutagenic activity of roasted coffee?. *Mutat Res.* 1997 Jul; 391(3): 171–17. doi: [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(97\)00065-X](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(97)00065-X).

23. Fernandes AS, Melloa FVC, Thode S Filho, Carpesa RM, Honório JG, Marques MRC, et al. Impacts of discarded coffee waste on human and environmental health, *Ecotoxicol Environ Saf.* 2017 Jul; 141(1): 30-36. doi: [10.1016/j.ecoenv.2017.03.011](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.03.011).

24. Sotibran ANC, Ordaz-Téllez MG, Rodríguez-Arnaiz, R. Flavonoids and oxidative stress in *Drosophila melanogaster*. *Mutat Res.* 2011 Nov; 726(1): 60-65. doi: [10.1016/j.mrgentox.2011.08.005](https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2011.08.005).

25. Nagao M, Fujita Y, Wakabayashi K, Nukaya H, Kosuge T, Sugimura T. Mutagens in Coffee and Other Beverages. *Environ Health Perspect.* 1986 Aug; 67: 89-91. doi: [10.1289/ehp.866789](https://doi.org/10.1289/ehp.866789).

26. Kosugi A, Nagao M, Suwa Y, Wakabayashi K, Sugimura T. Roasting coffee beans produces compounds that induce prophage in *E. coli* and are mutagenic in *E. coli* and *S. typhimurium*. *Mutat Res.* 1983 Mar; 116(3-4): 179- 184. doi: [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(83\)90058-7](https://doi.org/10.1016/0165-1218(83)90058-7).

[https://doi.org/10.1016/0165-1218\(83\)90058-7](https://doi.org/10.1016/0165-1218(83)90058-7).

27. Dourado G, Barbancho M, Pueyo C. Coffee is Highly Mutagenic in the L-arabinose Resistance Test in *Salmonella typhimurium*. *Environ Mutagen.* 1987; 9(3): 251-260. doi: [10.1002/em.2860090304](https://doi.org/10.1002/em.2860090304).

28. Heimbach JT, Marone PA, Hunter JM, Nemzer BV, Stanley SM, Kennepohl E. Safety studies on products from whole coffee fruit. *Food Chem Toxicol.* 2010 Aug; 48(8-9): 2517- 2525. doi: [10.1016/j.fct.2010.06.025](https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.06.025).

29. Duarte MP, Laires A, Gaspar J, Oliveira JS, Rueff J. Genotoxicity of instant coffee: possible involvement of phenolic compounds. *Mutat Res.* 1999 Aug-Sep; 442(1): 43-51. doi: [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(99\)00057-1](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(99)00057-1).

30. Stadler RH, Turesky RJ, Muller O, Markovic J, Leong-Mogenthaler PM. The inhibitory effects of coffee on radical-mediated oxidation and mutagenicity. *Mutat Res.* 1994 Jul; 308(2): 177-190. doi: [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(94\)90153-8](https://doi.org/10.1016/0027-5107(94)90153-8).

31. Fujita Y, Wakabayashi K, Nagao M, Sugimura T. Implication of hydrogen peroxide in the mutagenicity of coffee. *Mutat Res.* 1985 Dec; 144(4): 227-230. doi: [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(85\)90055-7](https://doi.org/10.1016/0165-7992(85)90055-7).

32. Iriando-DeHond A, Haza AI, Avalos A, Del Castilho MD, Morales P. Validation of coffee silverskin extract as a food ingredient by the analysis of cytotoxicity and genotoxicity. *Food Res Int.* 2017 Oct; 100(Pt 1): 791-797. doi: [10.1016/j.foodres.2017.08.012](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.08.012).

33. Kalthoff S, Landerer S, Reich J, Strassburg CP. Protective effects of coffee against oxidative stress induced by the tobacco carcinogen benzo[alpha]pyrene. *Free Radic Biol Med.* 2017 Jul; 108: 66-76. doi: [10.1016/j.freeradbiomed.2017.03.006](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.03.006).

34. Abraham SK, Stopper H. Anti-genotoxicity of coffee against N-methyl-N-Nitro-N_nitrosoguanidine in mouse lymphoma cells. *Mutat Res.* 2004 Jul; 561(1-2): 23-33. doi: [10.1016/j.mrgentox.2004.03.010](https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2004.03.010).

Como citar este artigo/How to cite this article:

Oliveira LS, Vieira TC, Moraes CR. Avaliação da capacidade carcinogênica do extrato aquoso de café, em células somáticas de *Drosophila melanogaster*. *J Health Biol Sci.* 2020 J; 8(1):1-6.