

## EXTRATO PADRONIZADO DE ARAÇÁ AMARELO (*Psidium cattleianum*) INIBE MIGRAÇÃO CELULAR DE LINHAGEM CELULAR C6

GIULIA BUENO DE OLIVEIRA DA SILVA<sup>1</sup>; FRANCIELI DA SILVA DOS SANTOS<sup>2</sup>;  
JULIANE TORCHELSEN SARAIVA<sup>3</sup>; NATHALIA STARK PEDRA<sup>4</sup>; NATÁLIA  
PONTES BONA<sup>5</sup>; FRANCIELI MORO STEFANELLO<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – giuliadasilvas2002@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – tessmerfran@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – julianetorchelsen@gmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – nathaliastark@hotmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – nataliapbona@gmail.com

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – fmstefanello@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

Gliomas, os tumores malignos mais recorrentes do Sistema Nervoso Central (SNC), são caracterizados por crescimento invasivo nos tecidos cerebrais circundantes e apresentam resistência a vários tratamentos oncológicos (MA et al., 2018). O glioblastoma (GB), glioma de grau 4, é o tumor glial mais agressivo do SNC, sendo a maior taxa de incidência observada em indivíduos adultos e idosos (SANTOS et al., 2019). Embora o tratamento seja baseado na combinação de cirurgia, radioterapia e quimioterapia, pacientes com GBM exibem sobrevida média de 14 a 18 meses (MA et al. 2018; SANTOS et al., 2019). Portanto, a procura de novas terapias de interesse farmacológico é essencial para aumentar o prognóstico dos pacientes e reduzir a malignidade do tumor.

Nesse contexto, as plantas são alternativas promissoras, pois possuem um arsenal bioquímico diverso (SIMÕES et al., 2007). O fruto amarelo de *Psidium cattleianum*, planta nativa do Brasil pertencente à família Myrtaceae, é popularmente conhecido como araçá e apresenta em sua composição moléculas bioativas como ácidos fenólicos e flavonoides capazes de inibir a proliferação celular e induzir apoptose em células neoplásicas (BIEGELMEYER et al., 2011; MEDINA et al., 2011; ABOTALEB et al., 2020). Assim, o potencial antitumoral desses polifenóis tornam o extrato de *Psidium cattleianum* um alvo de estudo promissor na terapia antiglioma.

Considerando o exposto, o presente estudo objetivou investigar o efeito antitumoral do extrato padronizado de *Psidium cattleianum* frente a migração celular de linhagem de glioma de rato C6.

### 2. METODOLOGIA

#### 2.1 Extrato padronizado de *Psidium cattleianum*

Os frutos amarelos de *Psidium cattleianum* foram cedidos pela EMBRAPA Clima Temperado, Pelotas, Rio Grande do Sul. A preparação do extrato hidroalcóolico foi feita de acordo com RAMOS e colaboradores (2020). Inicialmente, os frutos congelados foram macerados. Os compostos bioativos foram extraídos da polpa dos frutos utilizando 245 mL de etanol (proporção 70:30 v/v de etanol-água) em banho ultrassônico por 30 minutos à 25 °C. O extrato bruto obtido foi filtrado, o etanol retirado sob pressão reduzida e por fim o extrato foi liofilizado.

## 2.2 Cultura de linhagem de glioma de rato C6

A linhagem de glioma de rato (C6) foi obtida da *American Type Culture Collection*, e cultivada em meio DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB). Após atingir uma confluência de 90%, as células foram semeadas em placas de 24 poços em uma densidade de  $20 \times 10^3$  células por poço e mantidas sob condições padrões de cultivo, a 37°C e atmosfera umidificada com 5% de CO<sub>2</sub>.

## 2.3 Ensaio de migração celular

O efeito do extrato de *Psidium cattleianum* sobre a migração celular foi realizada de acordo com KACKMAREK e colaboradores (2005). Esse ensaio consiste na observação por imagens da migração celular após a realização de uma fenda artificial com o auxílio de uma ponteira amarela na monocamada de células confluentes. Após a realização da fenda, as células foram lavadas com solução tampão livre de cálcio e magnésio (*calcium magnesium free* - CMF) e expostas ao extrato de *Psidium cattleianum* na concentração de 750 µg/mL. Por fim, o fechamento da fenda foi monitorado nos intervalos de tempo de 0, 2, 4, 6, e 24 h de tratamento utilizando microscópio invertido acoplado à câmera digital (Olympus EP50, Toquio, Japão). Células não tratadas foram utilizadas como controle. As imagens foram analisadas pelo software ImageJ.

## 2.4 Análise estatística

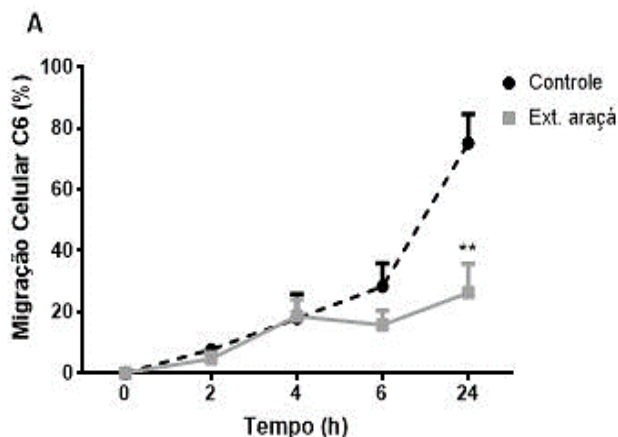
Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão e analisados por ANOVA de uma via seguido de *post-hoc* de Tukey. Os resultados foram considerados significativos quando  $P < 0,05$ .

# 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme EISEMANN e colaboradores (2018), o padrão do crescimento invasivo nos tecidos cerebrais circundantes do GBM é umas das principais causas da resistência aos tratamentos utilizados e consequentemente pela sobrevida baixa dos pacientes acometidos pelo tumor. Logo, a determinação de compostos que atuem reduzindo os mecanismos de motilidade de células tumorais é importante. Como ilustrado na **Figura 1**, o extrato de arará inibiu a migração celular em linhagem de glioma de rato C6 em até 48,93% após 24 h de tratamento com a concentração de 750 µg/mL.

O extrato padronizado de *Psidium cattleianum* tem como polifenois a catequina, ácido gálico, quercetina e kaempferol (dados não publicados). De acordo com SHENG (2015), o flavonoide catequina inibe a migração celular em 24 h de tratamento em linhagem de glioma humano (U87). Já LU e colaboradores (2010) demonstraram que o ácido gálico é capaz de reduzir a invasibilidade das células da linhagem U87. A quercetina reduz a expressão do fator de crescimento ligado a heparina em células de glioma (C6), cuja elevada expressão tem sido associada a altas de proliferação e migração das células tumorais (SILVA et al., 2020). Ademais, o flavonoide kaempferol reduz a expressão da metaloproteínase 9 e da óxido nítrico sintase induzível, ambas envolvidas na invasão e metástase de tumores nas células de linhagem C6 (SHEN et al., 2006).

A partir dos dados apresentados e relatos da literatura, é possível inferir que os ácidos fenólicos e flavonoides presentes no extrato de araçá amarelo podem interagir com componentes responsáveis pela motilidade das células cancerígenas, assim, reduzindo a migração celular de linhagem de glioma de rato C6.



**Figura 1.** Extrato padronizado de *Psidium cattleianum* inibiu a migração celular de linhagem de glioma de rato C6 após 24 h de tratamento. Células não tratadas foram utilizadas como controle. Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão, analisados por ANOVA seguido de *post-hoc* de Tukey e considerados significativos quando  $P < 0,05$ . \*\* Significativamente diferente do controle ( $P < 0,01$ ).

#### 4. CONCLUSÕES

Os resultados relatados no presente estudo demonstram que o extrato padronizado do fruto amarelo de *Psidium cattleianum* é capaz de reduzir a migração celular na linhagem de glioma C6. Mais estudos são necessários para elucidar o efeito antiglioma deste extrato.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOTALEB, M.; LISKOVA, A.; KUBATKA, P.; BÜSSELBERG, D. Therapeutic Potential of Plant Phenolic Acids in the Treatment of Cancer. **Biomolecules**, v. 10, n. 2, 2020.
- BIEGELMEYER, R.; MARIA, J.; ANDRADE, M.; ANA, L.; APEL, M. A.; DRESCH, R. R.; MARIN, R. Comparative analysis of the chemical composition and antioxidant activity of red (*Psidium cattleianum*) and yellow (*Psidium cattleianum* var. *lucidum*) strawberry Guava fruit. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 7, p. C991–C996, 2011.
- EISEMANN, T., COSTA, B.; STRELAU, J.; MITTELBRONN, M.; ANGEL, P.; PETERZIEL, H. An advanced glioma cell invasion assay based on organotypic brain slice cultures. **BMC Cancer**, v. 18, n. 1, p. 103, 2018.
- KACZMAREK, E.; ERB, L.; KOZIAK, K.; JARZYNA, R.; WINK, M.; GUCKELBERGER, O.; ROBSON, S. Modulation of endothelial cell migration by extracellular nucleotides. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 93, n. 04, p. 735-742, 2005.

LU, Y.; JIANG, F.; JIANG, H.; WU, K.; ZHENG, X.; CAI, Y.; TO, S. S. T. Gallic acid suppresses cell viability, proliferation, invasion and angiogenesis in human glioma cells. **European Journal of Pharmacology**, v. 641, n. 2-3, p. 102-107, 2010.

MA, Q.; LONG, W.; XING, C.; CHU, J.; LUO, M.; WANG, H.; LIU, Q.; WANG, R. Cancer Stem Cells and Immunosuppressive Microenvironment in Glioma. **Frontiers In Immunology**, v. 9, p. 2924, 2018.

MEDINA, A. L.; HAAS, L. I. R.; CHAVES, F. C.; SALVADOR, M.; ZAMBIAZI, R.C.; DA SILVA, W. P.; NORA, L.; ROMBALDI, C. V. Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. **Food Chemistry**, v. 128, p. 916–922, 2011.

RAMOS, V. P.; DA SILVA, P. G.; OLIVEIRA, P. S.; BONA, N. P.; SOARES, M. S. P.; CARDOSO, J. S.; HOFFMANN, J. F.; CHAVES, F. C.; SCHNEIDER, A.; SPANEVELLO, R. M.; LENCINA, C. L.; STEFANELLO, F. M.; TAVARES, R. G. Hypolipidemic and anti-inflammatory properties of phenolic rich *Butia odorata* fruit extract: potential involvement of paraoxonase activity. **Biomarkers**, v. 25, p. 417-424, 2020.

SANTOS, M.; CORRÊA, T.; FARIA, L.; SIQUEIRA, G.; REIS, P.; PINHEIRO, R. **Diretrizes oncológicas 2**. São Paulo: Doctor Press Editora Científica, 2019.

SHEN, S.C.; LIN, C.W.; LEE, H.M.; CHIEN, L.L.; CHEN, Y.C.. Lipopolysaccharide plus 12-o-tetradecanoylphorbol 13-acetate induction of migration and invasion of glioma cells in vitro and in vivo: differential inhibitory effects of flavonoids. **Neuroscience**, Taipei, v. 140, n. 2, p. 477-489, 2006.

SHENG, Z. Z. Anticancer effects of catechin flavonoid in human glioma cells are mediated via autophagy induction, cell cycle arrest, inhibition of cell migration and invasion and targeting MAPK/ERK signalling pathway. **Journal of B.U.ON.**, v. 2, p. 1084-1090, 2015.

SILVA, A. B.; COELHO, P. L. C.; OLIVEIRA, M. N.; OLIVEIRA, J. L.; AMPARO, J. A. O.; SILVA, K. C.; SOARES, J. R. P.; PITANGA, B. P. S.; SOUZA, C. S.; LOPES, G.P. F.; SILVA, V. D. A.; COSTA, M. F. D.; JUNIER, M. P.; CHNEIWEISS, H.; MOURA-NETO, V.; COSTA, S. C. The flavonoid rutin and its aglycone quercetin modulate the microglia inflammatory profile improving anti glioma activity. **Brain, Behavior, And Immunity**, v. 85, p. 170-185, 2020.

SIMÕES, C.; SCHENKEL, E.; GOSMANN, G., MELLO, J.; MENTZ, L.; PETROVICK, P. (Org.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6 ed. Porto Alegre: Ed. da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007.