

POTENCIAL EFEITO ANTITUMORAL DO EXTRATO AQUOSO DE *CECROPIA PACHYSTACHYA* E DE SUA FRAÇÃO ENRIQUECIDA EM FLAVONOIDES SOBRE LINHAGEM DE GLIOBLASTOMA HUMANO U87

FRANCIELI DA SILVA DOS SANTOS¹; NATÁLIA PONTES BONA²; NATHALIA STARK PEDRA³; MAYARA SANDRIELLY SOARES DE AGUIAR⁴; JULIANE TORCHELSEN SARAIVA⁵; FRANCIELI MORO STEFANELLO⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – tessmerfran@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – nataliapbona@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – nathaliastark@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – mspereirasoares@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – julianetorchelsen@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – fmstefanello@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O glioblastoma (GBM) é o tumor cerebral maligno que apresenta maior incidência e agressividade (OSTROM et al., 2022). O tratamento é realizado com ressecção cirúrgica, quando possível, seguido de radioterapia e quimioterapia, cujo o quimioterápico padrão é a temozolomida (TMZ) (Ministério da Saúde, 2020). Apesar da combinação de tratamentos ter apresentado aumento na sobrevida dos pacientes, o prognóstico dos mesmos permanece desfavorável, com sobrevida média de apenas 15 meses (STUPP et al., 2017).

Diante desta problemática é de extrema importância a busca por alternativas terapêuticas capazes de melhorar este prognóstico, bem como a qualidade de vida dos pacientes acometidos pela doença. Nesse sentido, os compostos naturais mostram-se promissores, uma vez que contribuem para a síntese de novos fármacos (ATANASOV et al., 2021). Dentre os compostos, destacam-se os flavonoides, com efeito antitumoral em diferentes linhagens tumorais (ZHAI et al., 2021). Flavonoides podem ser encontrados em diversas espécies de plantas, como na *Cecropia pachystachya* (GAZAL et al., 2014; PEREIRA et al., 2020). Investigações dos efeitos de extratos desta espécie sugerem que os mesmos manifestam ações farmacológicas (GAZAL et al., 2014; ARAGÃO et al., 2013), incluindo ação citotóxica frente a linhagens tumorais (ARAGÃO et al., 2013; PEREIRA et al., 2020).

Diante do exposto, o presente estudo visa avaliar o efeito do extrato aquoso de *Cecropia pachystachya* (CEC) e de sua fração enriquecida em flavonoides (FR) sobre a viabilidade, proliferação e migração celular em linhagem de GBM humano U87.

2. METODOLOGIA

CEC foi preparado pelo método de infusão aquosa, segundo Gazal et al. (2014), e a FR segundo ORTMANN et al. (2016). A linhagem de GBM humano U87 foi obtida da *American Type Culture Collection*, cultivada em meio DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino. As células foram semeadas em placas de 96 poços em densidade de 5×10^3 células por poço e mantidas sob condições padrão de cultivo celular (5% CO₂, 37°C e atmosfera umidificada). O tratamento com CEC e FEF foi realizado nas concentrações de 2 a 500 µg/mL no período de 24 h. Células não tratadas foram utilizadas como controle.

A viabilidade celular foi avaliada mediante ensaio de 3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)2,5-difenil brometo de tetrazolina (MTT) conforme descrito por MOSMMAN (1983). O teste de proliferação celular foi realizado pelo ensaio sulfurodamina B (SKEHAN et al., 1990). E por fim, o ensaio de migração celular foi realizado de acordo com BONA e colaboradores (2019), utilizando concentrações do CEC e FR de 0,5, 1 e 2 μ g/mL, nos tempos de 0, 2, 4, 6 e 24 h.

Os dados foram analisados em triplicata utilizando a ANOVA de uma via, seguida do teste *post-hoc* de Tukey, e a ANOVA de duas vias, seguida do teste *post-hoc* de Bonferroni. A diferença entre os grupos foi considerada significativa quando $P < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

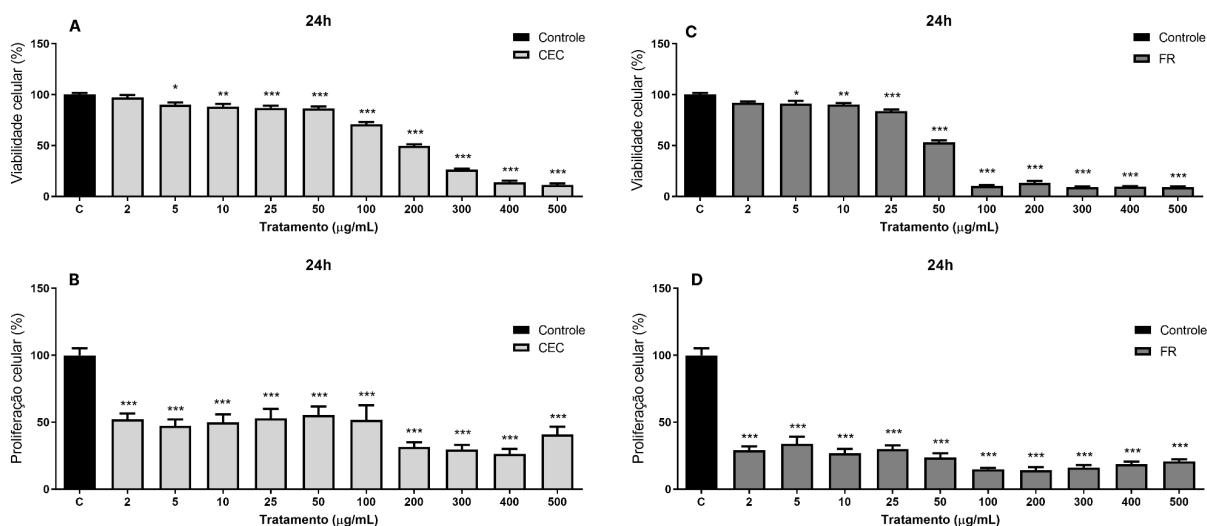


Figura 1. Efeito do CEC (A e B) e de FR (C e D) sobre a viabilidade e proliferação celular de linhagem de GBM U87 após 24 h. Dados expressos como média \pm erro padrão, analisados por ANOVA de uma via seguido de *post-hoc* de Tukey. **, ***, ***Significativamente diferente do controle ($P < 0,05$, $P < 0,001$ e $P < 0,0001$, respectivamente).

***Significativamente diferente do controle ($P < 0,05$, $P < 0,001$ e $P < 0,0001$, respectivamente).

Os resultados em relação à viabilidade celular indicam uma redução significativa a partir da concentração de 5 μ g/mL do CEC, alcançando, nas concentrações de 300, 400 e 500 μ g/mL, diminuição de 74, 86 e 89%, respectivamente (Figura 1A). Além disso, foi possível observar uma redução significativa da proliferação celular a partir da concentração mais baixa (2 μ g/mL), com diminuição de 69, 71 e 74% nas concentrações de 200, 300 e 400 μ g/mL, respectivamente (Figura 1B). De modo semelhante, a FR reduziu a viabilidade celular, atingindo mais de 90% de redução a partir da concentração de 100 μ g/mL (Figura 1C). Ademais, reduziu a proliferação celular em 71% na menor concentração, atingindo 80% nas maiores concentrações (Figura 1D).

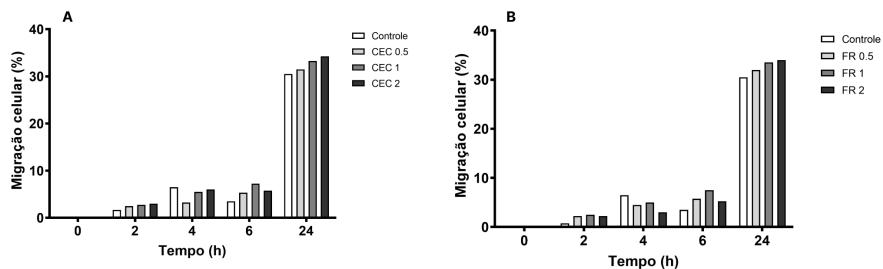


Figura 2. Efeito do CEC (A) e FR (B) sobre a migração celular de linhagem de GBM U87 nos tempos de 0, 2, 4, 6 e 24 h. Dados expressos como média \pm erro padrão, analisados por ANOVA de duas vias seguido de *post-hoc* de Bonferroni. Diferença significativa quando $P<0,05$ (***)

Em relação à migração celular, os resultados sugerem que não houve diferença significativa entre as células tratadas com CEC ou FR e as células não tratadas (**Figura 2**).

O presente estudo é pioneiro na investigação dos efeitos citotóxicos do CEC sobre a linhagem de GBM U87, e os resultados estão em conformidade com o que é descrito na literatura, que propõe que extratos desta espécie manifestam efeito citotóxico frente a linhagens tumorais (ARAGÃO et al., 2013; PEREIRA et al., 2020). Ainda, o perfil cromatográfico do CEC, neste estudo, assemelha-se ao descrito na literatura, no qual foram identificados, no CEC e na FR, o ácido clorogênico, isoorientina, orientina, isovitexina e isoquercitrina (GAZAL et al., 2014; PEREIRA et al., 2020).

Alguns desses compostos têm sido objeto de investigação devido ao seu potencial antitumoral. O ácido clorogênico, por exemplo, demonstrou um potencial efeito antitumoral em diferentes linhagens tumorais, inclusive a U87 (HUANG et al., 2019). Além disso, foi bem tolerado pelos pacientes com GBM recorrente em um estudo clínico de fase I (KANG et al., 2023). Adicionalmente, ressalta-se a presença de flavonoides no CEC e FR, visto que estes também apresentam potencial como agentes antitumorais, inclusive em ação sinérgica com os fármacos tradicionais utilizados no tratamento, como o TMZ (ZHAI et al., 2021).

4. CONCLUSÕES

Os resultados dos tratamentos com CEC e FR sugerem que não houve redução significativa da migração celular na linhagem de GBM humano U87. Entretanto, ambos reduziram de maneira significativa a viabilidade e proliferação celular na linhagem U87, mesmo nas menores concentrações testadas. Com base nisso, pode-se inferir que CEC e FR possuem potencial para serem objetos de estudo como candidatos ao arsenal terapêutico frente ao GBM.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATANASOV, A.G et al. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 20, p. 200-216, 2021.

ARAGÃO, D.M. et al. Anti-inflammatory, antinociceptive and cytotoxic effects of the methanol extract of *Cecropia pachystachya* Trécul. **Phytotherapy Research**, v. 27, p. 926-930, 2013.

BONA, N.P. et al. Tannic acid elicits selective antitumoral activity in vitro and inhibits cancer cell growth in a preclinical model of glioblastoma multiforme. **Metabolic Brain Disease**, v. 35, n. 2, p. 283-293, 2019.

GAZAL, M. et al. Antidepressant-like effects of aqueous extract from *Cecropia pachystachya* leaves in a mouse model of chronic unpredictable stress. **Brain Research Bulletin**, v. 108, p. 10-17, 2014.

HUANG, S. et al. Chlorogenic acid effectively treats cancers through induction of cancer cell differentiation. **Theranostics**, v. 9, n. 23, p. 6745-6763, 2019.

KANG, Z. et al. Phase I study of chlorogenic acid injection for recurrent high-grade glioma with long-term follow-up. **Cancer Biology & Medicine**, v. 20, n. 6, p. 465-476, 2023.

Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde. Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias e Inovação em Saúde. **Diretrizes Diagnósticas e Terapêuticas de Tumor Cerebral no Adulto**. Brasília: Ministério da Saúde, 2020.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

ORTMANN, C.F. et al. Enriched Flavonoid Fraction from *Cecropia pachystachya* Trécul Leaves Exerts Antidepressant-like Behavior and Protects Brain Against Oxidative Stress in Rats Subjected to Chronic Mild Stress. **Neurotoxicity Research**, v. 29, p. 469-483, 2016.

OSTROM, Q.T. et al. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2015-2019. **Neuro-Oncology**, v. 24, n. 5, p. v1-v95, 2022.

PEREIRA, E. D. M. et al. In vivo and in vitro toxicological evaluations of aqueous extract from *Cecropia pachystachya* leaves. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 83, n. 19-20, p. 659-671, 2020.

SKEHAN, P. et al. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 82, n. 13, p. 1107-1112, 1990.

STUPP, R. et al. Effect of Tumor-Treating Fields Plus Maintenance Temozolomide vs Maintenance Temozolomide Alone on Survival in Patients With Glioblastoma: A Randomized Clinical Trial. **The Journal of the American Medical Association**, v. 318, n. 23, p. 2306-2316, 2017.

ZHAI, K. et al. Flavonoids Synergistically Enhance the Anti-Glioblastoma Effects of Chemotherapeutic Drugs. **Biomolecules**, v. 11, n. 12, p. 1841, 2021.