

EXTRATO PADRONIZADO DE *BUTIA ODORATA* EXERCE EFEITO CITOTÓXICO SELETIVO SOBRE LINHAGENS DE GLIOMA C6 E U87MG

JULIANE TORCHELSEN SARAIVA¹; LARISSA MENEZES DA SILVEIRA²;
WILLIAM SANABRIA SIMÕES³; FRANCIELI DA SILVA DOS SANTOS⁴;
NATHALIA STARK PEDRA⁵; FRANCIELI MORO STEFANELLO⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – julianetorchelsen@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – larissamenezes1999@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – williamsimoest@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – tessmerfran@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – nathaliastark@hotmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – fmstefanello@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Os gliomas são um grupo de tumores heterogêneos do sistema nervoso central e, dentre os tipos de gliomas existentes, destaca-se o glioblastoma multiforme (GBM) por ser o tipo de tumor cerebral mais agressivo devido sua constituição de células altamente invasivas e infiltrativas (LOUIS *et al.*, 2021). Infelizmente, as abordagens terapêuticas atuais contribuem com uma melhora limitada no prognóstico dos pacientes com GBM, mostrando 15 meses de sobrevida mediana e menos de 5% da taxa de sobrevida em 5 anos (HUANG *et al.*, 2021). Assim, permanecem os desafios na busca de tratamentos mais eficientes e abordagens alternativas para compor o arsenal terapêutico do GBM.

Diante disso, o fruto *Butia odorata*, popularmente conhecido como butiá, possui uma composição rica em compostos bioativos, responsáveis por exercer propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, além da prevenção de alguns tipos de cânceres (HOFFMANN *et al.*, 2017; RAMOS *et al.*, 2020), o que torna este fruto um promissor alvo de pesquisa. Baseado no exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito citotóxico do extrato padronizado de *Butia odorata* sobre as linhagens de glioma de rato (C6) e de glioma humano (U87MG).

2. METODOLOGIA

2.1. Obtenção do extrato de *Butia odorata*: Os frutos de *Butia odorata* foram obtidos através da EMBRAPA Clima Temperado. Após coletados, estes foram congelados até o momento de serem utilizados, cujo extrato foi preparado conforme BORDIGNON *et al.* (2009). Resumidamente, os frutos congelados foram sonicados em banho ultrassônico com 245 mL de etanol-água (70:30 v/v) por 30 minutos a 25 °C, posteriormente o extrato foi filtrado, o etanol foi evaporado e a solução remanescente foi liofilizada até total seca.

2.2. Cultivo e tratamento de C6, U87MG e astrócitos: Ambas as linhagens e os astrócitos foram cultivados em meio DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino. As linhagens foram semeadas em uma densidade de 5×10^3 células por poço e mantidas em condições padrões de cultivo (37 °C, 5% de CO₂ e atmosfera umidificada) até o momento do tratamento. Para a realização do cultivo primário de astrócitos foram utilizados ratos Wistar (1-2 dias) conforme FROTA *et al.* (2009). As células foram semeadas em uma densidade de 3×10^4 células por poço e mantidas em condições padrões de cultivo por 15 dias. Todos

os procedimentos envolvendo animais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPEL (CEEAA 31292). As culturas foram expostas ao extrato de *Butia odorata* em concentrações crescentes de 125 a 2000 µg/mL durante 72 h, e células não tratadas foram utilizadas como controle.

2.3. Análise citotóxica: A proliferação celular foi determinada pela coloração de proteínas celulares através do reagente sulforodamina B conforme SKEHAN *et al.* (1990), e a viabilidade celular foi avaliada através do teste de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)2,5-difenil brometo de tetrazolina (MTT) conforme MOSMANN (1983), cujo ensaio baseia-se na quantificação de células metabolicamente ativas.

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 mostrado na **Figura 1A**, observa-se uma redução significativa da viabilidade celular na linhagem C6 após 72 h de tratamento com o extrato de *Butia odorata* nas concentrações de 750, 1000, 1500 e 2000 µg/mL em 44%, 43%, 53% e 58%, respectivamente, quando comparado ao controle. Na **Figura 1B** pode-se visualizar que o extrato foi capaz de reduzir significativamente a proliferação celular da linhagem C6 nas concentrações de 500, 750, 1000, 1500 e 2000 µg/mL em 34%, 50%, 52%, 62% e 74%, respectivamente, quando comparado ao controle.

Com relação a linhagem U87MG, observa-se que o tratamento com o extrato após 72 h foi capaz de reduzir significativamente a viabilidade celular nas concentrações de 500, 750, 1000, 1500 e 2000 µg/mL em 40%, 60%, 55%, 61% e 54%, respectivamente, quando comparado ao controle (**Figura 1C**). De mesma forma, na **Figura 1D** pode-se visualizar que o extrato foi capaz de reduzir de forma significativa a proliferação celular em todas as concentrações testadas (125-2000 µg/mL) em 23%, 28%, 44%, 61%, 67%, 74% e 71%, respectivamente, quando comparado ao controle.

Ressalta-se que a caracterização fitoquímica do extrato de *Butia odorata* utilizado neste trabalho foi previamente descrita por RAMOS *et al.* (2020), e estes efeitos antiglioma observados sobre as linhagens podem ser devido a composição bioativa do extrato. Os compostos majoritários encontrados neste incluem os flavonoides, mais especificamente a catequina ($24,75 \pm 0,64$ µg/g), epicatequina ($22,57 \pm 0,31$ µg/g) e rutina ($15,40 \pm 0,3$ µg/g) (RAMOS *et al.*, 2020). Adicionalmente, SHENG (2020) relatou que uma catequina isolada reduziu notavelmente a viabilidade, migração, invasão celular e formação de colônias da linhagem U87MG de forma concentração-dependente. Além disso, o galato de epigallocatequina, um derivado de catequina, exerce efeitos antiglioma frente às linhagens C6 e U87MG em diferentes concentrações (YOKOYAMA *et al.*, 2001). Ressalta-se que o GBM apresenta distintos mecanismos que contribuem para uma rápida proliferação e progressão tumoral (ZHAI *et al.*, 2021), dessa forma a busca por compostos e extratos de naturais multi-alvo se torna uma importante ferramenta aliada ao tratamento do GBM.

Por fim, o extrato de *B. odorata* não exerceu nenhuma alteração significativa na viabilidade e proliferação do cultivo primário de astrócitos

saudáveis (Figuras 1E e F), indicando um possível efeito citotóxico seletivo do extrato frente às linhagens de glioma.

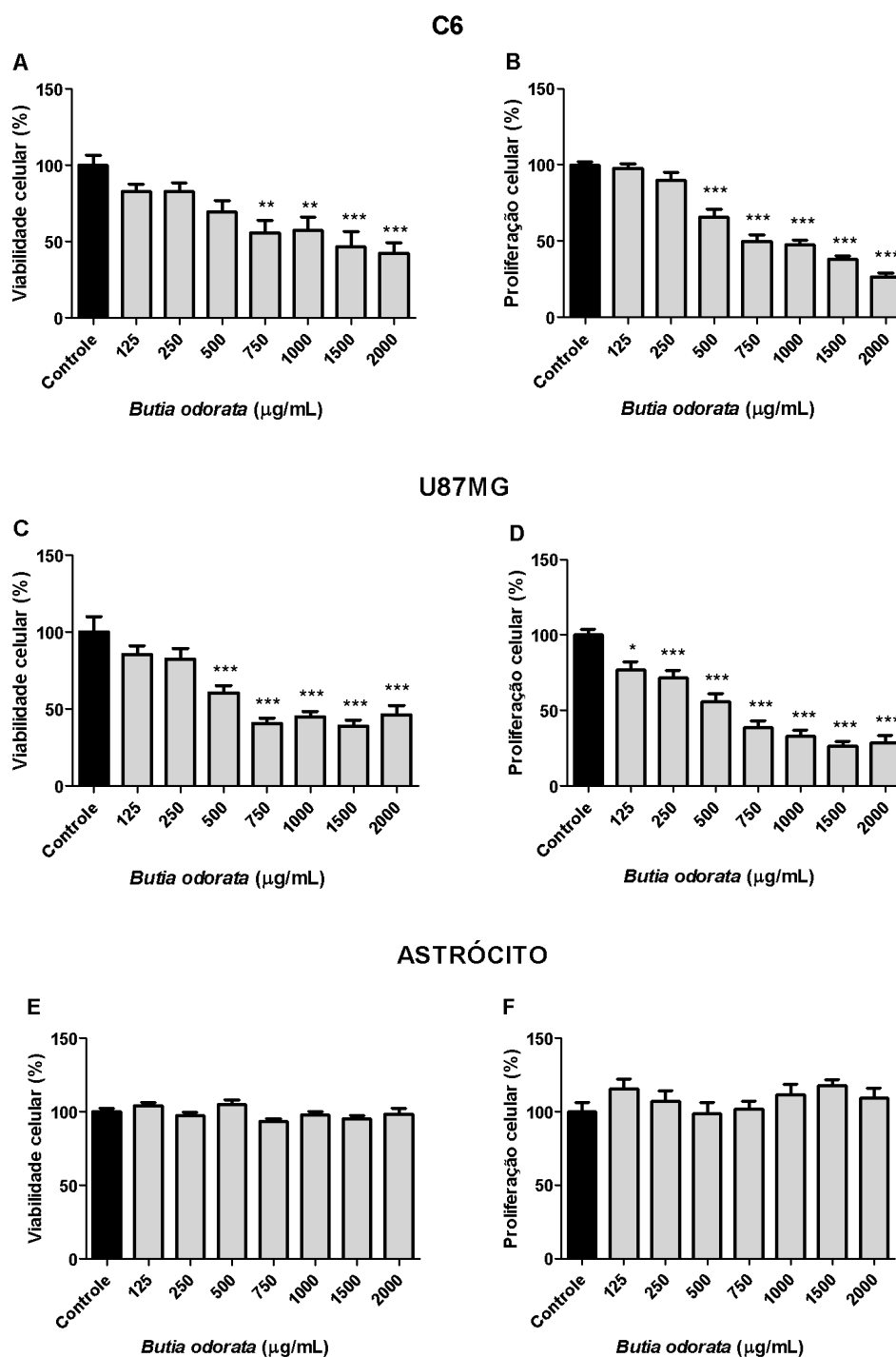


Figura 1. Tratamento com extrato de *Butia odorata* após 72 h sobre a viabilidade (A, C e E) e proliferação celular (B, D e F) de C6 (A e B), U87MG (C e D) e astrócitos (E e F). Os dados foram analisados por ANOVA de uma via, seguido pelo teste de Tukey e expressos como média±erro padrão. (*) $P<0,05$, (**) $P<0,01$, (***) $P<0,001$ significativamente diferente do grupo controle.

4. CONCLUSÕES

Baseado nos resultados obtidos, conclui-se que o extrato de *Butia odorata* foi capaz de reduzir efetivamente a viabilidade e proliferação celular, tanto na linhagem de glioma C6 como na U87MG. Neste contexto, os componentes bioativos encontrados no extrato podem ser considerados promissores para constituir o arsenal terapêutico do GBM.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BORDIGNON, C.; FRANCESCATO, V.; NIENOW, A. *et al.* Influência do pH da solução extrativa no teor de antocianinas em frutos de morango. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 1, p. 183-188, 2009.

FROTA, M.; BRAGANHOL, E.; CANEDO, A. *et al.* Brazilian marine sponge *Polymastia janeirensis* induces apoptotic cell death in human U138MG glioma cell line, but not in a normal cell culture. **Investigational New Drugs**, v. 27, p. 13-20, 2008.

HOFFMANN, J.; ZANDONÁ, G.; DOS SANTOS, P. *et al.* Stability of bioactive compounds in butiá (*Butia odorata*) fruit pulp and nectar. **Food Chemistry**, v. 237, p. 638-644, 2017.

HUANG, B.; LI, X.; LI, Y. *et al.* Current immunotherapies for glioblastoma multiforme. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 603911, 2021.

LOUIS, D.; PERRY, A.; WESSELING, P. *et al.* The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system: a summary. **Neuro-oncology**, v. 23, n. 8, p. 1231-1251, 2021.

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.

RAMOS, V.; DA SILVA, P.; OLIVEIRA, P. *et al.* Hypolipidemic and anti-inflammatory properties of phenolic rich *Butia odorata* fruit extract: potential involvement of paraoxonase activity. **Biomarkers**, v. 25, n. 5, p. 417-424, 2020.

SHENG, 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. 25, n. 2, p.1084-1090, 2020.

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

YOKOYAMA, S.; HIRANO, H.; WAKIMARU, N. *et al.* Inhibitory effect of epigallocatechin-gallate on brain tumor cell lines in vitro. **Neuro-Oncology**, v. 1, p. 22-8, 2001.

ZHAI, K.; MAZURAKOVA, A.; KOKLESOVA, L. *et al.* Flavonoids synergistically enhance the anti-glioblastoma effects of chemotherapeutic drugs. **Biomolecules**, v. 12, p. 1841, 2021.