

IMPACTO DO EXTRATO DE *BUTIA ODORATA* SOBRE PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO NA LINHAGEM DE GLIOBLASTOMA U87MG

**JULIANE TORCHELSSEN SARAIVA¹; FRANCIELI DA SILVA DOS SANTOS²;
WILLIAM SANABRIA SIMÕES³; JÚLIA ARAÚJO DA SILVA⁴; NATHALIA STARK
PEDRA⁵; FRANCIELI MORO STEFANELLO⁶**

¹*Universidade Federal de Pelotas – julianetorchelsen@gmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – tessmerfran@gmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas – williamsimoest@gmail.com*

⁴*Universidade Federal de Pelotas – juliaaraujodsilva@gmail.com*

⁵*Universidade Federal de Pelotas – nathaliastark@hotmail.com*

⁶*Universidade Federal de Pelotas – fmstefanello@gmail.com*

1. INTRODUÇÃO

O glioblastoma (GBM), classificado como o glioma de maior grau de malignidade em adultos, é reconhecido como o tumor cerebral mais agressivo e letal (BISEROVA *et al.*, 2021). Sua natureza complexa envolve diferentes vias de sinalização, dentre elas o estresse oxidativo (EO), caracterizado pelo desequilíbrio entre a produção de espécies reativas e a capacidade do organismo de neutralizá-las por meio de mecanismos antioxidantes (SHI *et al.*, 2023). O tratamento do GBM consiste em cirurgia, radioterapia e quimioterapia, entretanto a sobrevida média dos pacientes permanece apenas entre 14 e 18 meses (BISEROVA *et al.*, 2021). Considerando o exposto, enfatiza-se a pesquisa por alternativas terapêuticas a fim de melhorar o prognóstico dos pacientes.

Nesse contexto, o fruto de *Butia odorata* (BO) desperta interesse devido à sua rica composição nutricional, contendo moléculas bioativas como compostos fenólicos, carotenoides e vitaminas, os quais apresentam elevada capacidade antioxidante e, consequentemente, promovem inúmeros benefícios à saúde humana (BARBOSA *et al.*, 2021). Ainda, o extrato hidroalcoólico de BO demonstrou exercer efeitos antitumorais de forma seletiva em linhagens de câncer de colo de útero (SiHa e C33a) (BOEING *et al.*, 2020), destacando o potencial desse fruto como um promissor alvo de pesquisa. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito antioxidante do extrato hidroalcoólico de BO sobre a linhagem de GBM humano (U87MG).

2. METODOLOGIA

2.1 Preparo do extrato de *Butia odorata* (BO): O extrato de BO foi preparado conforme Ramos *et al.* (2020). Resumidamente, os frutos foram sonicados em banho ultrassônico com 240 mL de etanol-água (70:30 v/v) por 30 min a 25 °C, posteriormente o extrato foi filtrado, o etanol foi evaporado e a solução remanescente foi liofilizada até total secura.

2.2 Cultivo e tratamento de linhagem U87MG: A linhagem U87MG foi cultivada em meio DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino, posteriormente as células foram semeadas em uma densidade de 5×10^3 células/poço para a análise de espécies reativas de oxigênio (ERO), e 3×10^6 células/poço para as demais análises de EO. Após, as células foram expostas ao extrato de BO em concentrações crescentes de 125 a 2000 µg/mL durante 72 h, e células não tratadas foram utilizadas como controle.

2.3 Análise de parâmetros de estresse oxidativo (EO): Os níveis de ERO e nitritos, bem como a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e o conteúdo de sulfidrilas (SH) foram mensurados na linhagem U87MG exposta ao extrato de BO (ALI *et al.*, 1992; STUEHR; NATHAN, 1989; MISRA; FRIDOVICH, 1972; AEBI, 1984; AKSENOV; MARKESBERY, 2001).

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

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato de BO reduziu significativamente os níveis de ERO nas células em todas as concentrações testadas, sendo essa diminuição mais proeminente na de 2000 µg/mL, onde ocorreu uma redução de 68,77% em comparação com o controle (**Figura 1A**). Da mesma forma, foi observado que o extrato diminuiu significativamente os níveis de nitritos em todas as concentrações, ocorrendo uma redução de até 66,04% em comparação com o controle (**Figura 1B**). Por outro lado, o extrato elevou significativamente a atividade da SOD em todas as concentrações, ocorrendo um aumento na concentração de 2000 µg/mL de 718,1% (**Figura 1C**), bem como aumentou a atividade da CAT na maior concentração em até 2222% quando comparado ao controle (**Figura 1D**). Além disso, houve um aumento significativo no conteúdo de SH na concentração de 2000 µg/mL de 144,6% em comparação ao controle (**Figura 1E**).

Considerando o envolvimento do EO no GBM, que pode causar danos como peroxidação de membranas e mutações genéticas, favorecendo a carcinogênese (RAMÍREZ-EXPÓSITO; MARTÍNEZ-MARTOS, 2019), destaca-se a importância de regular os mecanismos de defesa contra o EO. As enzimas SOD e CAT são a primeira linha de defesa antioxidante e auxiliam na neutralização de espécies reativas, sendo a SOD responsável por converter o ânion superóxido (O_2^-) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio, enquanto a CAT evita o acúmulo de H_2O_2 , decompondo-o em água e oxigênio, contribuindo para a redução dos níveis de ERO (RAMÍREZ-EXPÓSITO; MARTÍNEZ-MARTOS, 2019). Ainda, O_2^- pode interagir com o óxido nítrico, gerando espécies reativas de nitrogênio (IGHODARO; AKINLOYE, 2017). Além disso, resíduos de SH desempenham um papel importante na manutenção da homeostase do estado redox intracelular (AOYAMA, 2021).

Ademais, a caracterização fitoquímica do extrato de BO utilizado nesse estudo evidenciou a presença de diversos flavonoides, sendo a catequina, a epicatequina e a rutina os compostos majoritários (RAMOS *et al.*, 2020). Os flavonoides são amplamente estudados devido às suas propriedades antioxidantes (CAPARICA *et al.*, 2020), atribuídas à sua estrutura química, especialmente aos grupamentos hidroxila ligados ao anel aromático, que podem doar átomos de hidrogênio para neutralizar os efeitos deletérios de ERO (COSTA *et al.*, 2021). Em consonância com os resultados encontrados, Boeing e colaboradores (2020) avaliaram o extrato de BO com diferentes solventes, e foi observado que o extrato composto de etanol-água (80:20 v/v) apresentou alta capacidade antioxidante em comparação a outros tipos de extratos utilizados.

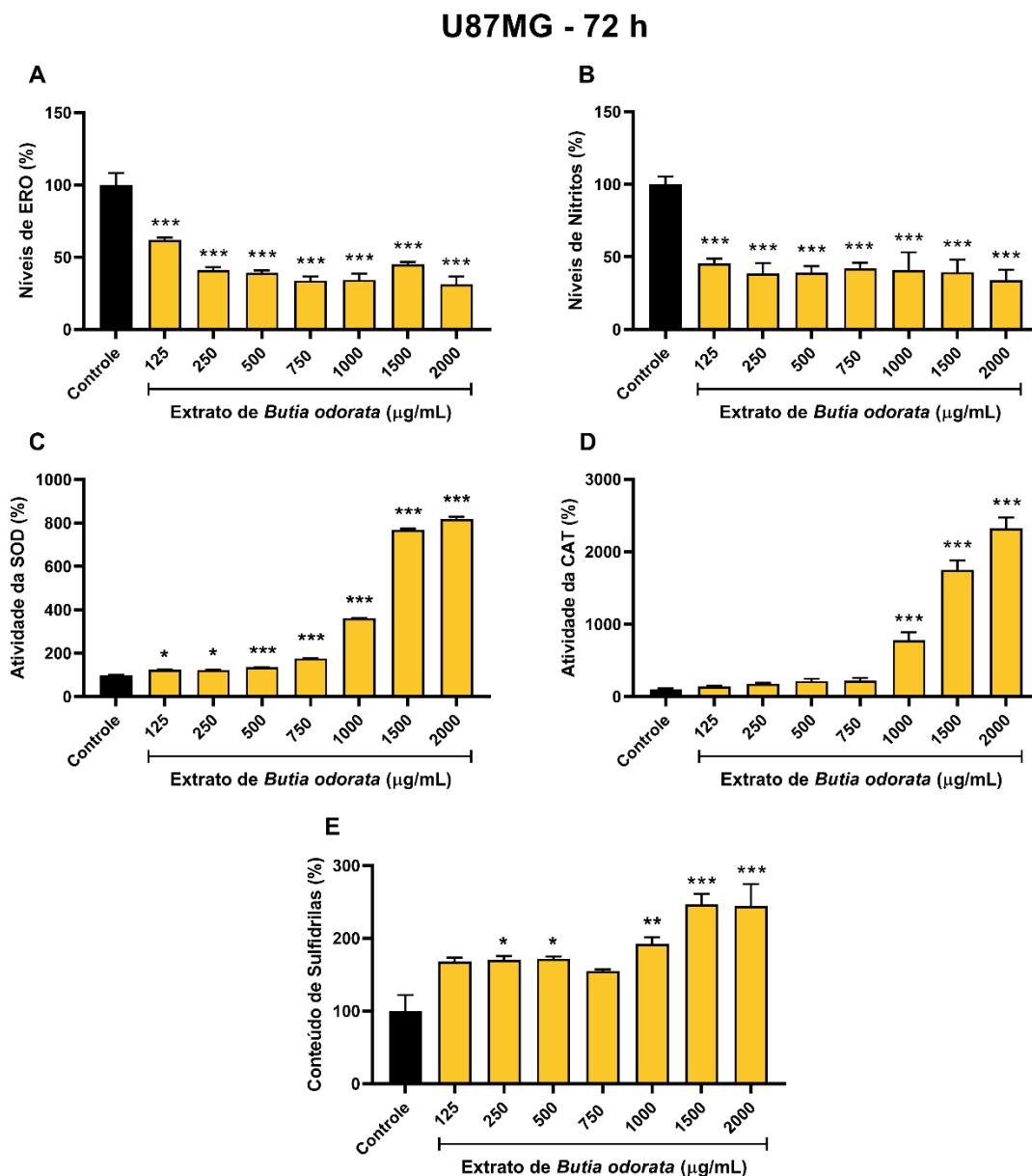


Figura 1. Parâmetros de EO em células U87MG tratadas com extrato de BO por 72 h. Níveis de espécies reativas de oxigênio (ERO) (A) e de nitritos (B); atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) (C) e catalase (CAT) (D); conteúdo de sulfidrilas (E). Os resultados foram expressos como porcentagem do controle. Os dados foram analisados por ANOVA de uma via, seguido pelo teste de Tukey e expressos como média \pm erro padrão de pelo menos três experimentos independentes. * $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$ significativamente diferente do controle.

4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que o extrato de BO apresenta uma potente atividade antioxidante sobre a linhagem U87MG, atuando como um agente protetor contra o EO e revelando-se uma fonte promissora de compostos bioativos com potencial terapêutico para a prevenção de danos oxidativos no contexto do GBM.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**, v.105, p.121–126, 1984.
- AKSENOV, M.; MARKESBERY, W. R. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. **Neuroscience Letters**, v. 302, p.141–145, 2001.
- ALI, S.; LEBEL, C.; BONDY, S. Reactive oxygen species formation as a biomarker of methylmercury and trimethyltin neurotoxicity. **Neurotoxicology**, v. 13, p. 637–648, 1992.
- AOYAMA, K. Glutathione in the Brain. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, p. 5010, 2021.
- BARBOSA, M.; ROSA, Q.; CARDOSO, L. et al. Composition proximate, bioactive compounds and antioxidant capacity of Butia capitata. **Food Science and Technology**, v. 41, p. 763–768, 2021.
- BISEROVA, K.; JAKOVLEVS, A.; ULJANOVS, R. et al. Cancer stem cells: Significance in origin, pathogenesis and treatment of glioblastoma. **Cells**, v. 10, n. 3, p. 621, 2021.
- BOEING, J.; BARIZÃO, E.; ROTTA, E. et al. Phenolic compounds from Butia odorata (Barb. Rodr.) Noblick fruit and its antioxidant and antitumor activities. **Food Analytical Methods**, v. 13, p. 61–68, 2020.
- CAPARICA, R.; JÚLIO, A.; PAVAN, I. et al. Anticancer activity of rutin and its combination with ionic liquids on renal cells. **Biomolecules**, v. 10, p. 233, 2020.
- COSTA, M.; SEZGIN-BAYINDIR, Z.; LOSADA-BARREIRO, S. et al. Polyphenols as antioxidants for extending food shelf-life and in the prevention of health diseases: Encapsulation and interfacial phenomena. **Biomedicines**, v. 9, p. 1909, 2021.
- IGHODARO, O.; AKINLOYE, O. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defense grid. **Alexandria Journal of Medicine**, p. 1–7, 2017.
- MISRA, H.; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 247, p. 3170–3175, 1972.
- RAMÍREZ-EXPÓSITO, M.; MARTÍNEZ-MARTOS, J. The Delicate Equilibrium between Oxidants and Antioxidants in Brain Glioma. **Current Neuropharmacology**, v. 17, n. 4, p. 342–351, 2019.
- 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.
- SHI, Z.; WU, Y.; ZHUO, Y. et al. Comprehensive analysis of oxidative stress-related lncRNA signatures in glioma reveals the discrepancy of prognostic and immune infiltration. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 7731, 2023.
- STUEHR, D.; NATHAN, C. Nitric oxide. A macrophage product responsible for cytostasis and respiratory inhibition in tumor target cells. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 169, p. 1543–1555, 1989.