

EFEITO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE ARAÇÁ AMARELO (*Psidium cattleianum*) SOBRE PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM LINHAGENS DE GLIOMA C6 E U87MG

**FRANCIELI DA SILVA DOS SANTOS¹; JULIANE TORCHELSEN SARAIVA²;
WILLIAM SANABRIA SIMÕES³; EDUARDA PACKOWSKI BRAGA⁴; NATHALIA
STARK PEDRA⁵; FRANCIELI MORO STEFANELLO⁶**

¹ Universidade Federal de Pelotas – tessmerfran@gmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – julianetorchelsen@gmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas – williamsimoest@gmail.com

⁴ Universidade Federal de Pelotas – dudabraaga@gmail.com

⁵ Universidade Federal de Pelotas – nathaliastark@hotmail.com

⁶ Universidade Federal de Pelotas – fmstefanello@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Estresse oxidativo (EO) pode ser definido como um desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes em favor dos oxidantes, resultando em alterações na sinalização e regulação *redox* e/ou a danos moleculares (SIES, 2015). Entre os agentes oxidantes, destacam-se as espécies reativas de oxigênio (ERO), como peróxido de hidrogênio (H₂O₂), radical hidroxila (•OH) e ânion superóxido (O₂•⁻) (LIU *et al.*, 2022). Entre os agentes antioxidantes, encontram-se as enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), responsáveis, respectivamente, por converter o O₂•⁻ em H₂O₂ e oxigênio (O₂) e degradar H₂O₂ em água e O₂ (LIU *et al.*, 2022).

Os danos moleculares, como aqueles causados ao DNA por moléculas como o •OH, se não reparados, podem levar a transformações malignas nas células (SALEH *et al.*, 2023). Já as alterações na sinalização e regulação *redox* podem favorecer a proliferação, sobrevivência e migração de células tumorais (SALEH *et al.*, 2023). Sendo assim, o EO está associado tanto à carcinogênese quanto ao desenvolvimento tumoral (SALEH *et al.*, 2023).

Essa condição é particularmente relevante no contexto dos cânceres que acometem o sistema nervoso central (SNC), o qual apresenta alta vulnerabilidade a processos oxidativos devido ao elevado consumo de oxigênio (LIU *et al.*, 2022). Entre esses cânceres, destaca-se o glioblastoma (GBM), glioma mais comum e agressivo do SNC (OSTROM *et al.*, 2023). Apesar das alternativas terapêuticas atualmente propostas, estima-se que apenas 6,9% dos pacientes diagnosticados sobrevivem por cinco anos ou mais após o diagnóstico (OSTROM *et al.*, 2023). Diante disso, a busca por alternativas terapêuticas frente a essa doença torna-se extremamente relevante.

Nesse sentido, destacam-se os frutos amarelos de *Psidium cattleianum* (araçá). Em estudos preliminares, esses frutos já demonstraram potencial ação antioxidante, anti-inflamatória e antitumoral (MEDINA *et al.*, 2011; MCCOOK-RUSSELL *et al.*, 2012; MORAES *et al.*, 2023). No entanto, não há evidências sobre o impacto do araçá amarelo no EO em modelos de glioma. Assim, o presente estudo tem como objetivo investigar o efeito do extrato hidroalcoólico de araçá amarelo (EHA) sobre parâmetros de EO em linhagens de glioma C6 e U87MG.

2. METODOLOGIA

O EHA foi preparado segundo RAMOS *et al.* (2020). As linhagens de glioma de rato (C6) e humano (U87MG) foram obtidas da *American Type Culture Collection*, e cultivadas em meio DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino. As células foram semeadas em placas de 6 ou 96 poços, nas densidades de 3×10^6 ou 5×10^5 células por poço, respectivamente, e mantidas em condições padrão de cultivo celular (5% CO₂, temperatura a 37°C e atmosfera umidificada). Após, as mesmas foram expostas a concentrações crescentes de EHA (500, 750, 1000, 1500 e 2000 µg/mL) por 48 h. Células não tratadas foram utilizadas como controle.

Após o período de tratamento, as amostras foram preparadas de acordo com SIMÕES *et al.* (2024). Os níveis de ERO foram determinados segundo a metodologia previamente descrita por DOS SANTOS *et al.* (2017). As atividades das enzimas CAT e SOD foram avaliadas conforme AEBI (1984) e MISRA & FRIDOVICH (1972), respectivamente.

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

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados sugerem que o efeito do EHA foi similar em ambas as linhagens (**Figuras 1 e 2**). O tratamento reduziu os níveis de ERO em todas as concentrações testadas, com redução entre 33,8% e 55,5% na linhagem C6 (**Figura 1A**) e entre 51,5% e 76% na linhagem U87MG (**Figura 2A**), em relação ao controle. A atividade da CAT foi reduzida significativamente nas concentrações de 1000 a 2000 µg/mL na linhagem de rato (28,2% a 33,9%) (**Figura 1C**) e na maior concentração na linhagem humana (48%) (**Figura 2C**). Não foram detectadas alterações significativas na atividade da SOD em nenhuma das linhagens (**Figuras 1B e 2B**).

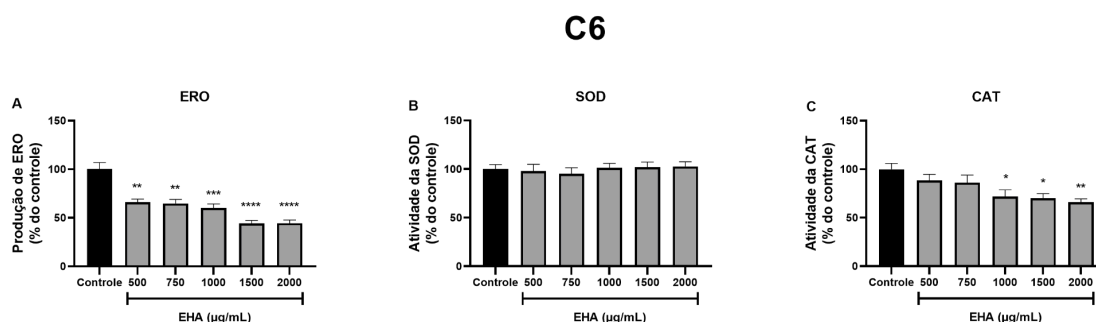


Figura 1. Efeito do EHA sobre parâmetros de EO na linhagem C6: (A) níveis de ERO; (B) atividade da SOD; (C) atividade da CAT. Dados expressos como média \pm erro-padrão, analisados por ANOVA de uma via, seguida de *post-hoc* de Tukey. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, **** $P < 0,0001$, indicando diferença significativa em relação ao controle.

Em suma, os dados sugerem que, em ambas as linhagens, o tratamento com EHA promoveu redução significativa nos níveis de ERO, sem alterar a atividade da SOD e com redução da atividade da CAT. ERO é um conceito amplo, englobando radicais livres derivados de O₂ e alguns derivados não radicais, incluindo H₂O₂ (LIU *et al.*, 2022). No presente estudo, os níveis de ERO foram

avaliados pelo teste de 2',7'-diclorofluoresceína (DCF), que detecta oxidantes tanto nas mitocôndrias quanto no citosol das células (KUZNETSOV *et al.*, 2011). Embora não diferencie as ERO e seja mais sensível ao H₂O₂ do que a radicais livres, trata-se de um método amplamente empregado, pois o H₂O₂ participa da reação de Fenton, gerando •OH, que pode oxidar proteínas, lipídios e DNA (KUZNETSOV *et al.*, 2011; MCMANUS *et al.*, 2014; LIU *et al.*, 2022).

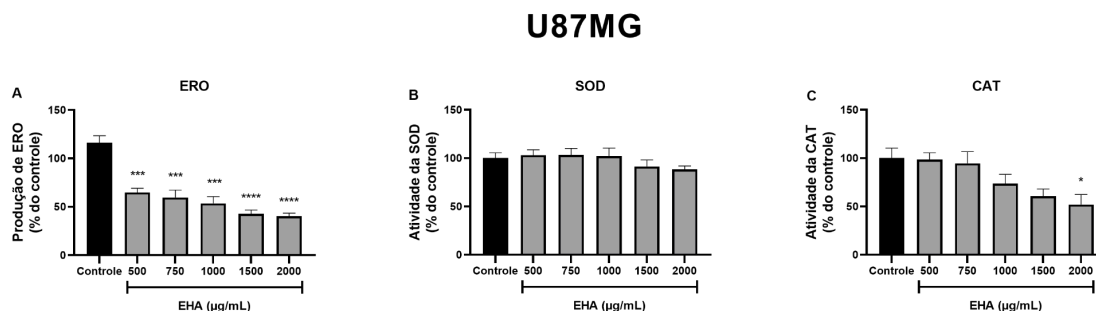


Figura 2. Efeito do EHA sobre parâmetros de EO na linhagem U87MG: (A) níveis de ERO; (B) atividade da SOD; (C) atividade da CAT. Dados expressos como média ± erro-padrão, analisados por ANOVA de uma via, seguida de *post-hoc* de Tukey. * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$, **** $P < 0,0001$, indicando diferença significativa em relação ao controle.

Diante disso, a redução observada nos níveis de ERO possivelmente reflete menor H₂O₂ intracelular, sem alteração da SOD, o que pode sugerir que a conversão de O₂^{•-} em H₂O₂ não foi afetada. No entanto, é importante considerar que o método utilizado para detecção da SOD é inespecífico e, devido ao preparo das amostras, provavelmente refletiu predominantemente a atividade da isoforma citosólica, SOD1 (MISRA & FRIDOVICH, 1972). Logo, uma hipótese alternativa é que a atividade da isoforma mitocondrial, SOD2, possa ter aumentado, mas não ter sido detectada, contribuindo para a dismutação do O₂^{•-}. Essa interpretação é consistente com estudos que relatam aumento da atividade ou expressão de SOD2 sem alterações correspondentes na SOD1 (JIA *et al.*, 2015; KUSACZUK *et al.* 2022). Em relação a CAT, a redução observada neste estudo sugere que outros sistemas antioxidantes, como a glutathione peroxidase (GPx), podem estar compensando a degradação do H₂O₂.

Assim, apesar das evidências de redução de ERO, não é possível inferir de forma conclusiva os efeitos do EHA sobre o EO no contexto do GBM. Investigações adicionais são necessárias, incluindo a análise da atividade de GPx e da expressão de SOD, CAT e GPx, com atenção às isoformas mitocondriais.

4. CONCLUSÕES

O tratamento com EHA promoveu redução significativa dos níveis de ERO em linhagens de glioma C6 e U87MG, sem alterar a atividade da SOD e com redução da CAT. Este é o primeiro estudo a investigar o efeito do EHA sobre parâmetros de EO em modelos de GBM. Embora diferentes hipóteses possam explicar a redução de ERO, os dados obtidos não permitem inferir conclusões definitivas. Diante disso, mais estudos são necessários a fim de elucidar os mecanismos envolvidos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**, v. 105, p. 121-126, 1984. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3).
- DOS SANTOS, L. M. *et al.* Methionine and methionine sulfoxide treatment induces M1/classical macrophage polarization and modulates oxidative stress and purinergic signaling parameters. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 424, p. 69-78, 2017.
- JIA, J. *et al.* SOD2 mediates amifostine-induced protection against glutamate in PC12 cells. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 4202437, 2015.
- KUSACZUK, M. *et al.* A preliminary study of the effect of quercetin on cytotoxicity, apoptosis, and stress responses in glioblastoma cell lines. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 3, p. 1345, 2022.
- KUZNETSOV, A. V. *et al.* Mitochondrial ROS production under cellular stress: comparison of different detection methods. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 400, n. 8, p. 2383-2390, 2011.
- LIU, S. *et al.* Potential targets and treatments affect oxidative stress in gliomas: An overview of molecular mechanisms. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, p. 921070, 2022.
- MCCOOK-RUSSELL, K. P. *et al.* Nutritional and nutraceutical comparison of Jamaican *Psidium cattleianum* (strawberry guava) and *Psidium guajava* (common guava) fruits. **Food Chemistry**, v. 134, p. 1069–1073, 2012.
- MCMANUS, M. J. *et al.* Mitochondria-derived reactive oxygen species mediate caspase-dependent and -independent neuronal deaths. **Molecular and Cellular Neuroscience**, v. 63, p. 13-23, 2014.
- MEDINA, A. L. *et al.* 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.
- MISRA, H. P.; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 247, p. 3170-3175, 1972.
- MORAES, L. S. *et al.* Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) ethanol extracts increase lifespan and alleviate oxidative stress in *Caenorhabditis elegans*. **Journal of Agriculture and Food Research**, [s.l.], v. 11, p. 100505, 2023.
- OSTROM, Q. T. *et al.* CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2016-2020. **Neuro-Oncology**, v. 25, n. 12 Suppl 2, p. iv1-iv99, 2023.
- RAMOS, V. P. *et al.* Hypolipidemic and anti-inflammatory properties of phenolic rich *Butia odorata* fruit extract: potential involvement of paraoxonase activity. **Biomarkers**, v. 25, p. 417-424, 2020.
- SALEH, E. A. M. *et al.* Oxidative stress affects the beginning of the growth of cancer cells through a variety of routes. **Pathology - Research and Practice**, v. 249, p. 154664, 2023.
- SIES, H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. **Redox Biology**, v. 4, p. 180-183, 2015.
- SIMÕES, W. S. *et al.* Antitumoral activity of electrospray-nanoencapsulated tannic acid on C6 and U87MG glioblastoma cell lines. **Scientific Reports**, v. 14, p. 2886-2898, 2024.