

EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *BUTIA ODORATA* MODULA PARÂMETROS DE MIGRAÇÃO E INFLAMAÇÃO EM LINHAGEM DE GLIOMA DE RATO C6

JULIANE TORCHELSEN SARAIVA¹; FRANCIELI DA SILVA DOS SANTOS²;
WILLIAM BORGES DOMINGUES³; MARIANA CAVALCANTI NASCIMENTO⁴;
NATHALIA STARK PEDRA⁵; FRANCIELI MORO STEFANELLO⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – julianetorchelsen@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – tessmerfran@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – williamwwe@yahoo.com.br

⁴Universidade Federal de Pelotas – marianacbiotec@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – nathaliastark@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – fmstefanello@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Os gliomas representam os tumores mais frequentes do sistema nervoso central, sendo o glioblastoma (GBM) o subtipo de maior agressividade e letalidade (LOUIS et al., 2021). A natureza complexa dessa neoplasia envolve diferentes vias de sinalização, incluindo a inflamação, caracterizada como uma resposta a danos teciduais decorrentes de lesões físicas, infecções ou outros traumas. Esse processo desencadeia alterações celulares e respostas imunes que favorecem a regeneração, mas, quando persistente, pode tornar-se crônico e contribuir para o desenvolvimento de diversas doenças, incluindo o câncer (SINGH, 2019). Nos gliomas, a inflamação está associada a etapas-chave da tumorigênese, como a proliferação celular, desequilíbrio do ciclo celular, migração e angiogênese (FAN et al., 2020).

O tratamento do GBM envolve cirurgia, radioterapia e quimioterapia, porém a sobrevida média dos pacientes se limita em até 18 meses (BISEROVA et al., 2021). Assim, destaca-se a relevância da investigação de novas estratégias terapêuticas para melhorar o prognóstico desses pacientes. Nesse cenário, o fruto de *Butia odorata* (BO) tem despertado atenção por sua composição nutricional diversificada, rica em compostos bioativos como fenólicos, carotenoides e vitaminas, que apresentam elevada atividade antioxidante e anti-inflamatória (RAMOS et al., 2020; BARBOSA et al., 2021). Além disso, o extrato hidroalcoólico de BO demonstrou exercer efeitos antitumorais de forma seletiva em linhagens de câncer de colo de útero (BOEING et al., 2020), evidenciando seu potencial como alvo promissor de pesquisa. Assim, o objetivo deste trabalho foi investigar o efeito do extrato de BO na viabilidade celular, bem como sua influência sobre parâmetros moleculares de IL-6, fator nuclear kappa B (NF-κB) e metaloproteinase de matriz 2 (MMP-2) em linhagem de glioma de rato (C6).

2. METODOLOGIA

2.1 Preparo do extrato de *Butia odorata* (BO): O extrato de BO foi preparado conforme SARAIVA et al. (2024). Resumidamente, os frutos foram sonicados 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 seca.

2.2 Cultivo e tratamento de linhagem C6: A linhagem 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 o ensaio de viabilidade celular, já para a determinação da expressão gênica, as células foram semeadas na densidade de 8×10^5 células/poço. Após, a linhagem foi exposta ao extrato de BO em concentrações crescentes de 125 a 2000 $\mu\text{g/mL}$ durante 72 h, e células não tratadas foram utilizadas como controle.

2.3 Análise de viabilidade celular e expressão gênica PCR: Após o tratamento com o extrato de BO, 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), enquanto as expressões de mRNA de *MMP-2*, *IL-6* e *NF- κ B* foram avaliadas por PCR (LIVAK; SCHMITTGEN, 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

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 BO nas concentrações de 750, 1000, 1500 e 2000 $\mu\text{g/mL}$ quando comparado ao controle. Além disso, na **Figura 1B**, observa-se que o tratamento com extrato de BO reduziu significativamente a expressão relativa de mRNA do gene *MMP-2* nas concentrações de 1000 e 2000 $\mu\text{g/mL}$ quando comparado ao controle. Esse resultado está de acordo com estudos anteriores que demonstraram que extratos de origem natural foram capazes de inibir a migração celular em linhagens de glioma (BONA et al., 2024; LI et al., 2021). Salienta-se que a migração, invasão e metástase de células tumorais são mediadas pela transição epitélio-mesenquimal, responsável por influenciar na adesão e motilidade celular, aumentando a capacidade migratória (ZHAI et al., 2021). Além disso, no GBM ocorre um aumento da expressão de *MMP-2*, enzima envolvida na degradação da matriz extracelular. Isso contribui para a transição epitelial-mesenquimal e, consequentemente, para a migração tumoral e a invasão do GBM (ZHAI et al., 2021; BEYLERLI et al., 2022).

Com relação à expressão relativa de mRNA dos genes *IL-6* (**Figura 1C**) e *NF- κ B* (**Figura 1D**), ocorreu uma diminuição significativa após o tratamento com ambas as concentrações do extrato de BO em comparação ao controle. Esses resultados estão em concordância com DA SILVA et al. (2000), que observaram uma redução da expressão de *IL-6* em linhagens de glioma humano tratadas com o flavonoide rutina, um dos compostos majoritários presentes no extrato de BO. De forma semelhante, WANG et al. (2023) relataram que a quercetina reduziu a expressão de *NF- κ B* em células de glioma T98G. O NF- κ B é um fator de transcrição importante em processos fisiológicos e patológicos, cuja ativação ocorre diante de estímulos proliferativos e inflamatórios (YU et al., 2020). Alterações em sua regulação estão ligadas ao câncer, promovendo invasão tumoral, e sua elevada atividade contribui para a quimiorresistência do GBM (JI et al., 2021). Ademais, a ativação do NF- κ B induz a expressão de citocinas pró-inflamatórias, como a *IL-6*, responsável por regular processos de proliferação, migração celular e inflamação (CHU et al., 2020).

Destaca-se que este é o primeiro estudo a evidenciar os efeitos antitumorais do extrato hidroalcoólico de BO em linhagem de glioma. Tais

resultados podem estar relacionados à sua composição fitoquímica previamente caracterizada, na qual a catequina, a epicatequina e a rutina foram identificadas como constituintes majoritários do extrato (RAMOS et al., 2020).

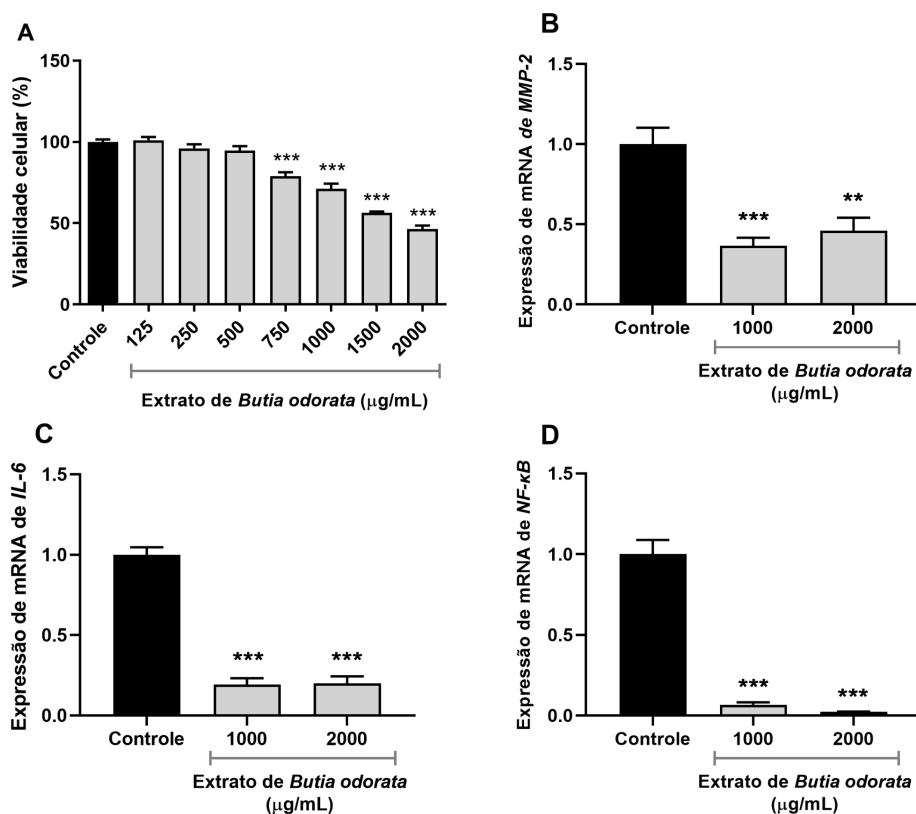


Figura 1. Tratamento com extrato de BO após 72 h sobre a viabilidade celular (A), expressão de *MMP-2* (B), *IL-6* (C) e *NF-κB* (D) de linhagem C6. Os dados foram analisados por ANOVA de uma via, seguido pelo teste de Tukey e expressos como média ± erro padrão. (**) $P < 0,01$, (***) $P < 0,001$ significativamente diferente do grupo controle.

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos indicam que o extrato de BO exerce efeitos antitumorais e anti-inflamatórios relevantes sobre a linhagem de glioma de rato C6, evidenciando seu potencial como fonte de compostos bioativos com possível aplicação terapêutica no tratamento do GBM.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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.
- BEYLERLI, O.; BEILERLI, A.; SHUMADALOVA, A. et al. Therapeutic effect of natural polyphenols against glioblastoma. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 10, p. 1036809, 2022.
- 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.

BONA, N.; PEDRA, N.; SPOHR, L. et al. Antitumoral activity of *Cecropia pachystachya* leaves extract in vitro and in vivo model of rat glioma: Brain and blood effects. **Molecular Neurobiology**, 2024.

CHU, R.; PAN, R.; YANG, C. Differentiation of Tumorigenic C6 Glioma Cells Induced by Enhanced IL-6 Signaling. **Medicina**, v. 56, n. 11, p. 625, 2020.

DA SILVA, A.; CERQUEIRA, L.; DAS NEVES, M., et al. The flavonoid rutin and its aglycone quercetin modulate the microglia inflammatory profile improving anti-glioma activity. **Brain Behavior and Immunity**, n. 85, p. 170-185, 2020.

FAN, W.; SONG, Y.; REN, Z. et al. Glioma cells are resistant to inflammation-induced alterations of mitochondrial dynamics. **International Journal of Oncology**, v. 57, n. 6, p. 1293-1306, 2020.

JI, J.; DING, K.; LUO, T. et al. TRIM22 activates NF- κ B signaling in glioblastoma by accelerating the degradation of I κ B α . **Cell Death and Differentiation**, v. 28, p. 367-381, 2021.

LI, J.; LI, S.; SHEN, M. et al. Anti-tumor effects of *Solanum nigrum* L. extraction on C6 high-grade glioma. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 274, p. 114034.

LIVAK, K.; SCHMITTGEN, T. Analysis of relative gene expression data using realtime quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. **Methods, United States**, v. 25, n. 4, p. 402-408, 2001.

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.

SARAIVA, J.; DOS SANTOS, F.; BONA, N. et al. Antitumor Effect of *Butia odorata* Hydroalcoholic Extract on C6 and U87MG Glioma Cell Lines: Impact on Redox Status and Inflammation Signaling. **Neurochemical Research**, v. 50, n. 1, p. 56, 2024.

SINGH, N. Inflammation and cancer. **Annals of African Medicine**, v. 18, n. 3, p. 121-126, 2019.

WANG, W.; YUAN, X.; MU, J. et al. Quercetin induces MGMT+ glioblastoma cells apoptosis via dual inhibition of Wnt3a/ β -Catenin and Akt/NF- κ B signaling pathways. **Phytomedicine**, n. 118, p. 154933, 2023.

YU, H.; LIN, L.; ZHANG, Z. et al. Targeting NF- κ B pathway for the therapy of diseases: mechanism and clinical study. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 5, n. 1, p. 209, 2020.

ZHAI, K.; SIDDIQUI, M.; ABDELLATIF, B. et al. Natural Compounds in Glioblastoma Therapy: Preclinical Insights, Mechanistic Pathways, and Outlook. **Cancers**, n. 13, p. 2317, 2021.