

## PERFIL LIPÍDICO E AVALIAÇÃO CITOTÓXICA DE *GANODERMA APLANATUM*: IMPLICAÇÕES PARA A SEGURANÇA BIOLÓGICA

LUÍZE GARCIA BLOTTA DE MELO<sup>1</sup>; VITÓRIA ROSE ANDRADE<sup>2</sup>; AMANDA<sup>2</sup>  
LEITZKE; CLAUDIO MARTIN PEREIRA DE PEREIRA<sup>2</sup>; JANICE LUHERING  
GIONGO<sup>3</sup>; RODRIGO DE ALMEIDA VAUCHER<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas (Ufpel) – luizegarmel@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas (Ufpel) – vitoriaarose@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas (Ufpel) - amandafonsecaleitzke@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas (Ufpel) - claudiochemistry@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Rio Grande (Furg) - janicegiongo@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas (Ufpel) - rodvaucher@hotmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

O modo de vida contemporâneo, marcado por estresse e hábitos pouco saudáveis, pode comprometer o sistema imunológico e a suscetibilidade a infecções, inflamação e patogenicidade de distúrbios crônicos (DE FREL et al., 2020; MANDELLI et al., 2023; PANDEY et al., 2023; PETERS et al., 2021). Como alternativa, observa-se um crescente interesse por recursos naturais capazes de auxiliar na manutenção da saúde, entre os quais os macrofungos do gênero *Ganoderma*, têm sido tradicionalmente utilizados por suas propriedades medicinais (AHMAD et al., 2023; CÖR ANDREJČ et al., 2022; PLOSCA et al., 2025; VENTURELLA et al., 2021). A espécie *Ganoderma aplanatum* (Pers.) Pat., conhecida como “artist’s conk”, é um macrofungo perene de grande porte, com distribuição cosmopolita, apresentando basidiocarpos lenhosos e de superfície lisa. Apresenta coloração marrom sem brilho externo, distinguindo-se de espécies próximas, como *G. lucidum* (SULKOWSKA-ZIAJA et al., 2023; ZHAO et al., 2019).

Os principais compostos do gênero *Ganoderma* incluem os polissacarídeos, especialmente  $\beta$ -glucanas, como potenciais moduladores da imunidade humoral, inata e celular (REN et al., 2021). Os triterpenos do tipo lanostano, como os ácidos ganodéricos, que são associados a efeitos antitumorais e anti-inflamatórios (CÖR ANDREJČ et al., 2022; WANG et al., 2024). Além de compostos fenólicos, esteróis e ácidos graxos, relacionados à captura de radicais livres e à modulação do estado redox celular (PLOSCA et al., 2025). As frações lipídicas incluem ácidos graxos poli-insaturados, ácidos graxos saturados, álcoois de cadeia longa, esteróis e hidrocarbonetos (LIU et al., 2024; LV et al., 2012; MARTÍNEZ et al., 1991; SALVATORE et al., 2020; TAN et al., 2024). Apesar do reconhecido potencial bioativo com espécies do gênero, estudos sobre a composição química e as propriedades bioativas de *G. aplanatum*, bem como sua segurança para utilização biológica ainda não são elucidados, reforçando a necessidade de sua investigação no contexto da bioprospecção. Nesse cenário, a espécie silvestre *G. aplanatum*, coletada no sul do Brasil, foi investigada em relação à sua caracterização lipídica e avaliação da fração lipídica sobre a viabilidade celular e doses de segurança no modelo celular ZF-L.

### 2. METODOLOGIA

#### 2.1 Coleta de amostras e extração

Os espécimes de *G. aplanatum* foram coletados no município de Capão do Leão (RS, Brasil). A coleta *in situ* foi realizada pelo método de caminhar ao longo da área, com busca ativa e oportunística, registrando os basidiocarpos encontrados predominantemente na madeira em decomposição (MUELLER et al.,

2004). Após identificação morfológica, os basidiomas foram desidratados a 45 °C por até 4 dias. A fração lipídica foi obtida pelo método de Bligh-Dyer, utilizando 1 g do material seco e triturado extraído com clorofórmio, metanol e solução de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1,5% m/v) sob agitação por 30 min, seguido da adição de clorofórmio e nova agitação. A mistura foi centrifugada por 30 min para separação de fases, sendo a fase inferior, contendo os lipídios, coletada para posterior utilização nos ensaios biológicos.

## **2.2 Caracterização lipídica**

O óleo obtido pelo método de Bligh-Dyer foi analisado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS, Shimadzu QP-2010, Quioto, Japão) para caracterização lipídica. As amostras, diluídas em hexano, foram injetadas automaticamente (AOC-20) em coluna capilar RTX-5 ms (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm), com hélio como gás de arraste. O programa de temperatura iniciou a 100 °C, foi elevado a 250 °C (3 °C/min) e mantido por 5 min. Os espectros (40–500 m/z) foram comparados com a biblioteca NIST 17 para identificação dos compostos. As análises foram realizadas no Laboratório INNOVASCHEM da UFPEL.

## **2.3 Ensaios de citotoxicidade**

Células hepáticas de *Danio rerio* (ZF-L), obtidas do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ), foram cultivadas em meio L-15/DMEM/Ham's F12 suplementado e mantidas a 28 °C. Para os ensaios, foram semeadas em placas de 96 poços (1×10<sup>5</sup> células/poço), incubadas 24h e tratadas com a fração lipídica de *G. aplanatum* (26,66–0,0001 mg/mL) por mais 24h. Utilizou-se DMSO (0,5%) como controle positivo e meio de cultivo como controle negativo (FERRER et al., 2024). A viabilidade foi avaliada pelo ensaio de MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio) (MOSMANN, 1983) com leitura a 560 nm. A viabilidade (%) foi calculada com base na relação entre os valores de absorbância dos grupos tratados, controle positivo e controle negativo.

# **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A análise do perfil lipídico de *G. aplanatum* revelou predominância de ácidos graxos insaturados (57,14%), em especial ácido linoleico (34,05%) e ácido elaídico (22,59%). Em menor proporção, foram detectados ácidos graxos saturados (13,06%), hidrocarbonetos (11,24%), fenólicos (6,87%), álcoois de cadeia longa (4,69%) e um esteroide (2,14%) (Figura 1). O ácido linoleico (ômega-6) tem uma atuação ambivalente no metabolismo, uma vez que pode participar da modulação de vias antioxidantes, ao mesmo tempo em que age como precursor de eicosanóides pró-inflamatórios (INNES & CALDER, 2018; KAVIANI et al., 2025). O ácido elaídico induz estresse do retículo endoplasmático e ativa vias pró-inflamatórias, elevando citocinas, favorecendo inflamação crônica e senescência celular (KOJIMA et al., 2025; H. LIU et al., 2022). Também compromete a função mitocondrial, promovendo estresse oxidativo e apoptose (H. LIU et al., 2024; YUAN et al., 2024). No entanto, apresenta potenciais efeitos moduladores sobre a resposta imune antitumoral (LAI et al., 2024). Tais evidências se relacionam com os resultados do ensaio de MTT nas células ZF-L do presente trabalho, onde se constatou uma redução da viabilidade celular dependente da concentração (Figura 2). Sendo necessário investigar se os mecanismos de citotoxicidade da fração lipídica de *G. aplanatum* estão relacionados com vias pró-inflamatórias e estresse oxidativo e quais efeitos podem estar sendo modulados em concentrações onde não reduziu a viabilidade celular de forma expressiva. A presença de ácidos graxos insaturados sugere

uma fração bioativa capaz de interagir fortemente com membranas celulares, alterando a fluidez e função mitocondrial (CONIGLIO et al., 2023; DECKER & FUNAI, 2024; FUENTES & MORCILLO, 2024; JACOBS et al., 2021; ZAKANY et al., 2023). A presença em menor concentração de ácidos graxos saturados também foi observada, incluindo ácido palmítico e esteárico. Estes dois compostos estão relacionados com a rigidez de membranas celulares e também potenciais efeitos lipotóxicos em células hepáticas, principalmente em concentrações elevadas (ALI & SZABÓ, 2023; LEVENTAL ET AL., 2020; MOLITERNI et al., 2024). Apesar de menos abundantes, podem atuar sinergicamente com insaturados, intensificando os efeitos citotóxicos observados. Embora a fração tenha revelado a presença de álcoois de cadeia longa, estes compostos podem ter sido carregados durante a extração e transesterificação (BUDGE & IVERSON, 2003). Em contrapartida, os hidrocarbonetos apresentam função predominantemente estrutural, contribuindo para a integridade da membrana e atuando como potenciais reservatórios energéticos (ALI & SZABÓ, 2023). Já os fenólicos identificados podem conferir propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas (F. ZHAO et al., 2020). Embora o ergosterol seja o esteroide predominante em fungos, outros esteróis como clionasterol podem estar presentes em menores proporções, possivelmente como produtos intermediários da via biossintética ou derivados de substratos vegetais ricos em fitoesteróis (DARNET et al., 2021; SOAPE, 2007).

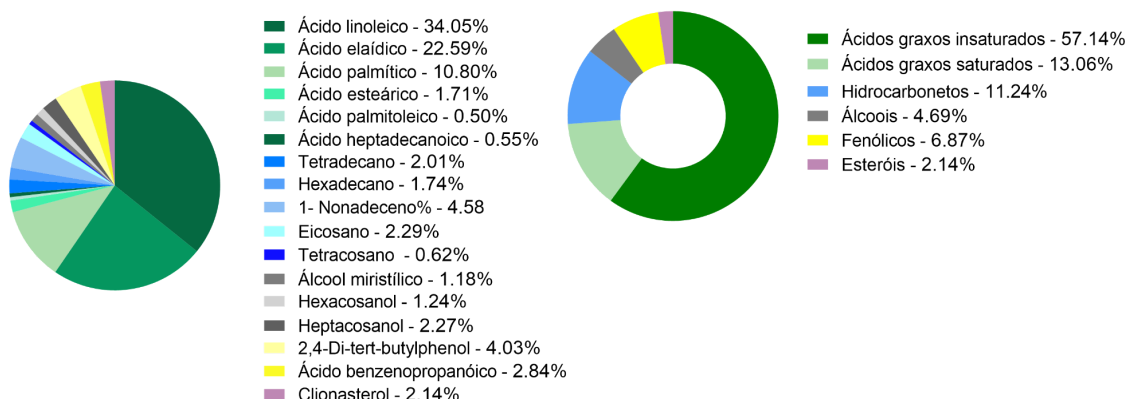


Figura 1. Perfil lipídico de *G. aplanatum* obtido por GC-MS. Distribuição percentual dos compostos identificados e agrupamento por classes químicas.

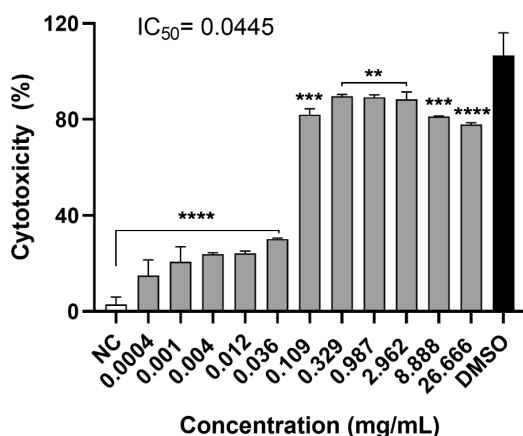


Figura 2. Citotoxicidade de hepatócitos de *Danio rerio* (ZF-L) expostos à fração lipídica de *G. aplanatum*, avaliada pelo ensaio de MTT. A análise estatística foi realizada por ANOVA unidirecional seguida do teste de Dunnett. Níveis de significância: \*\*p < 0,01; \*\*\*p < 0,001; \*\*\*\*p < 0,0001 em comparação ao controle negativo.

#### 4. CONCLUSÕES

A fração lipídica de *G. aplanatum* apresentou predominância de ácidos graxos insaturados, especialmente linoleico e elaídico, e promoveu efeito citotóxico dependente da concentração em células ZF-L. Observou-se que mesmo em baixas concentrações já ocorreu redução de 50% da viabilidade celular, o que reforça a necessidade de investigações complementares para elucidar os mecanismos de ação envolvidos. Este estudo representa uma contribuição inédita ao associar a caracterização lipídica de *G. aplanatum* à avaliação de segurança em modelo celular.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMAD, M. F. et al. *Ganoderma lucidum*: Novel insight into hepatoprotective potential with mechanisms of action. **Nutrients**, v. 15, n. 8, 2023.
- BORENFREUND, E.; PUERNER, J. A. A simple quantitative procedure using monolayer cultures for cytotoxicity assays (HTD/NR-90). **Journal of Tissue Culture Methods**, v. 9, n. 1, p. 7–9, 1985.
- CONIGLIO, S.; SHUMSKAYA, M.; VASSILIOU, E. Unsaturated fatty acids and their immunomodulatory properties. **Biology**, v. 12, n. 2, p. 279, 2023.
- CÖR ANDREJČ, D.; KNEZ, Ž.; KNEZ MAREVCI, M. Antioxidant, antibacterial, antitumor, antifungal, antiviral, anti-inflammatory, and neuro-protective activity of *Ganoderma lucidum*: An overview. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, p. 934982, 2022.
- DE FREL, D. L. et al. The impact of obesity and lifestyle on the immune system and susceptibility to infections such as COVID-19. **Frontiers in Nutrition**, v. 7, 2020.
- DECKER, S. T.; FUNAI, K. Mitochondrial membrane lipids in the regulation of bioenergetic flux. **Cell Metabolism**, v. 36, n. 9, p. 1963–1978, 2024.
- FERRER, E. M. K. et al. Effects of imazethapyr-based herbicide formulation in the zebrafish (*Danio rerio*) hepatocyte cell line (ZF-L): Cytotoxicity and oxidative stress. **Journal of Environmental Protection**, v. 15, n. 6, art. 6, 2024.
- FUENTES, J. M.; MORCILLO, P. The role of cardiolipin in mitochondrial function and neurodegenerative diseases. **Cells**, v. 13, n. 7, p. 609, 2024.
- INNES, J. K.; CALDER, P. C. Omega-6 fatty acids and inflammation. **Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids**, v. 132, p. 41–48, 2018.
- JACOBS, M. L. et al. EPA and DHA differentially modulate membrane elasticity in the presence of cholesterol. **Biophysical Journal**, v. 120, n. 11, p. 2317–2329, 2021.
- KAVIANI, E., HAJIBABAIE, F., ABEDPOOR, N., & SAFAVI, K. Synergic Effects and Possible Mechanism of Omega-6 Fatty Acids ( $\omega$ -6) on Immune System, Inflammation, and Cancer. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 69, n. 12, p. e70092, 2025.
- KOJIMA, R. et al. Elaidic acid drives cellular senescence and inflammation via lipid raft-mediated IL-1R signaling. **iScience**, v. 28, n. 9, 2025.