

## ÁCIDO GÁLICO MODULA O *STATUS* REDOX EM LINHAGEM DE GLIOBLASTOMA C6

FRANCIELI DA SILVA DOS SANTOS<sup>1</sup>; NATHALIA STARK PEDRA<sup>2</sup>; NATÁLIA PONTES BONA<sup>3</sup>; LUIZA SPOHR<sup>4</sup>; MAYARA SANDRIELLY PEREIRA SOARES<sup>5</sup>; FRANCIELI MORO STEFANELLO<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – tessmerfran@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – nathaliastark@hotmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – natinhabona@hotmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – luizaspoehr@hotmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – mspereirasoares@gmail.com

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – fmstefanello@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

O estresse oxidativo ocorre quando há desequilíbrio entre o sistema antioxidante do organismo e a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), entre as quais podemos citar o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), radical hidroxila e ânion superóxido. O aumento de ERO desencadeia diversos danos celulares, além de contribuir para o desenvolvimento e a proliferação tumoral (SAIKOLAPPAN et al., 2019).

Dentre os tumores cerebrais, o glioblastoma (GB) é o que apresenta maior incidência e agressividade (LOUIS et al., 2016), sendo caracterizado por sua alta capacidade infiltrativa, múltiplas alterações gênicas e danos oxidativos (RAMIREZ et al., 2013). Atualmente o tratamento é realizado com cirurgia, quando possível, seguido de radioterapia e quimioterapia, cujo o quimioterápico padrão é a temozolomida (TMZ). Entretanto, mesmo após o tratamento, a sobrevida média dos pacientes é de apenas 14 a 15 meses (THAKKAR et al., 2014), demonstrando a importância de alternativas terapêuticas capazes de melhorar este prognóstico.

O ácido gálico (AG) é um polifenol derivado de produtos naturais, como o mel, o morango e o vinho. Dentre suas propriedades farmacológicas destacam-se a ação antioxidante e anti-inflamatória (KAHKESHANI et al., 2019). Além disso, dados da literatura têm demonstrado que o AG exibe atividade antineoplásica sobre linhagens de GB humano (LU et al., 2010; PAOLINI et al., 2015), entretanto não há estudos avaliando se o AG modula o *status* redox em cultura de GB. Deste modo, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do AG sobre parâmetros de estresse oxidativo em linhagem de células C6 (GB de rato).

### 2. METODOLOGIA

#### 2.1 Cultivo de linhagem de GB

A linhagem de GB C6 (rato) foi obtida da *American Type Culture Collection* (ATCC), cultivada em meio DMEM e suplementada com 10% de soro fetal bovino. As células foram semeadas em densidade de 5x10<sup>3</sup> ou 3x10<sup>6</sup> células por poço e mantidas sob condições padrões de cultivo celular: 5% CO<sub>2</sub>, temperatura a 37°C e atmosfera umidificada. Posteriormente as células foram tratadas com AG nas concentrações de 50, 100, 200, 300 e 400 µM ao longo de 48 h.

#### 2.2 Parâmetros de estresse oxidativo

A produção de ERO intracelular foi avaliada seguindo o método de DOS SANTOS et al., (2017). A quantificação do conteúdo tiólico total foi realizada de

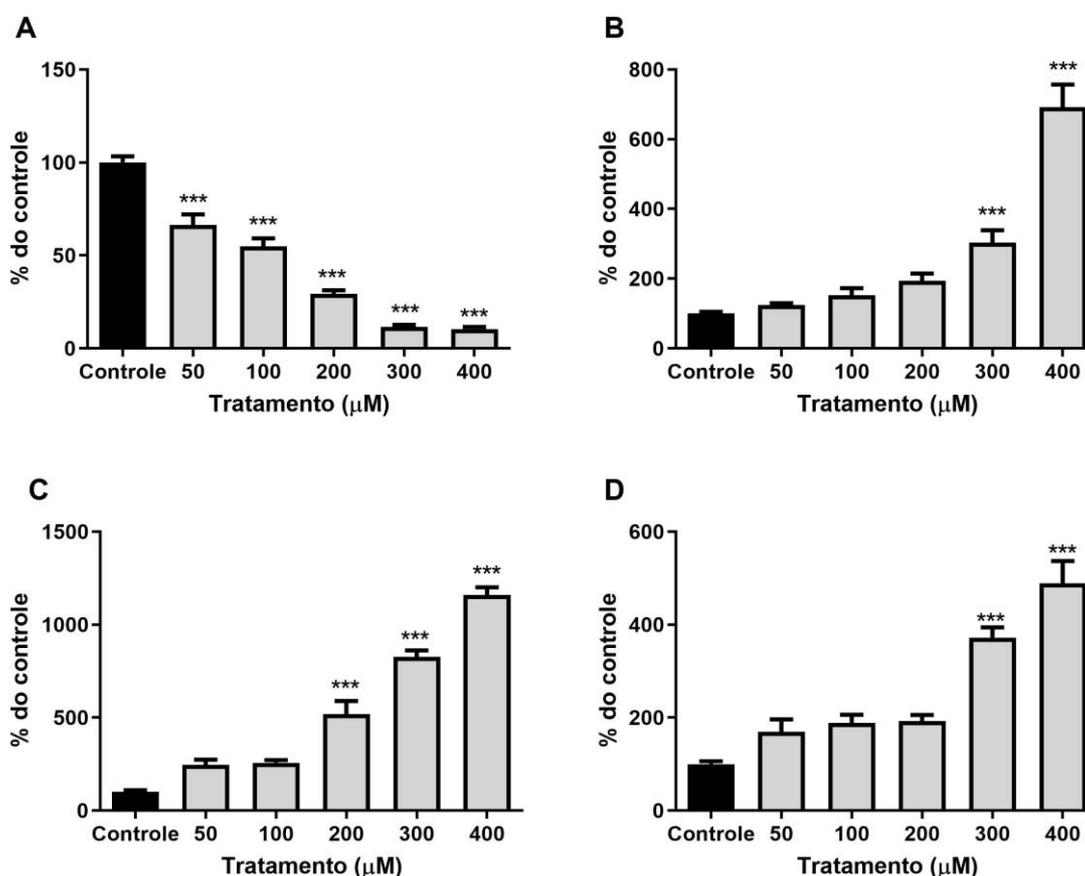
acordo com AKSENOV e MARKESBERY (2001). Além disso, foram determinadas as atividades das enzimas: catalase (CAT), de acordo com o método de AEBI (1984), e glutathiona peroxidase (GPx), utilizando o kit comercial RANSEL<sup>®</sup> (Randox Laboratories, Condado de Antrim, Reino Unido).

### 2.3 Análise estatística

Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão e analisados por ANOVA de uma via seguido do teste de Tukey. Os resultados foram considerados significativos quando  $P < 0,05$ .

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstram que o AG reduziu significativamente o estresse oxidativo, de modo concentração dependente. A redução nos níveis de ERO (Figura 1A) foi de mais de 50% nas maiores concentrações de AG, atingindo 90% na concentração de 400  $\mu\text{M}$ . Além disso, o AG aumentou o conteúdo tiólico total em 592%, comparado às células controle (Figura 1B).



**Figura 1.** Efeito do AG sobre parâmetros de estresse oxidativo em linhagem de glioma C6: (A) produção de ERO; (B) conteúdo tiólico total; (C) atividade da enzima CAT; (D) atividade da enzima GPx. Dados expressos como média  $\pm$  erro médio padrão, analisados pela ANOVA de uma via seguida de post-hoc de Tukey. Dados considerados significativos quando  $P < 0,05$ . \*\*  $P < 0,01$  e \*\*\*  $P < 0,001$  quando significativamente diferente do controle.

O organismo possui sistemas de defesa contra ERO, do qual fazem parte as enzimas CAT e GPx, que convertem  $H_2O_2$  em água (NELSON & COX, 2014). Conforme demonstrado na figura 1C, o tratamento com AG aumentou a atividade da enzima CAT em aproximadamente 1058%. Na figura 1D, observa-se que a GPx apresentou aumento de 390% em células expostas ao AG na concentração de 400  $\mu$ M. Devido a este aumento nos níveis de enzimas antioxidantes, sugere-se que o AG reduz os níveis de ERO, e, portanto, reduz os danos oxidativos característicos do microambiente tumoral.

#### 4. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, observa-se que o AG foi capaz de alterar, de forma significativa, parâmetros de estresse oxidativo em linhagem de células C6, demonstrando seu promissor efeito antioxidante e, portanto, seu potencial como objeto de pesquisa para o arsenal terapêutico do GB.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**, v. 105, p. 121-126, 1984.
- AKSENOV, M. Y.; 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, n. 2-3, p. 141-145, 2001.
- 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, n. 1-2, p. 69-78, 2017.
- KAHKESHANI, N.; FARZAEI, F.; FOTOUHI, M.; ALAVI, S. S.; BAHRAMSOLTANI, R.; NASERI, R.; MOMTAZ, S.; ABBASABADI, Z.; RAHIMI, R.; FARZAEI, M. H.; BISHAYEE, A. Pharmacological effects of gallic acid in health and diseases: A mechanistic review. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 22, n. 3, p. 225-237, 2019.
- LOUIS, D.; PERRY, A.; REIFENBERGER, G.; DEIMLING, A.; BRANGER, D.; CAVENEE, W.; OHGAKI, H.; WIESTLER, O.; KLEIHUES, P.; ELLISON, D. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. **Acta Neurophatologica**, v. 131, n. 6, p. 803-820, 2016.
- LU, Y.; JIANG, F.; JIANG, H.; WU, K.; ZHENG, X.; CAI, Y.; TO, S. S. T. Gallic acid suppresses cell viability, proliferation, invasion and angiogenesis in human glioma cells. **European Journal of Pharmacology**, v. 641, n. 2-3, p. 102-107, 2010.
- NELSON, D., L.; COX, M. M. Glicólise, Gliconeogênese e a Via das Pentoses-Fosfato. Nova Iorque, Estados Unidos: W. H. Freeman and Company. **Princípios de bioquímica de Lehninger**: Artmed, 2014. Capítulo 14, p. 514-585.
- PAOLINI, A.; CURTI, V.; PASI, F.; MAZZINI, G.; NANO, R.; CAPELLI, N. Gallic acid exerts a protective or an anti-proliferative effect on glioma T98G cells via dose-dependent epigenetic regulation mediated by miRNAs. **International journal of oncology**, v. 46, n. 4, p. 1491-1497, 2015.



RAMIREZ, Y. P.; WEATHERBEE, J. L.; WHEELHOUSE, R. T.; ROSS, A. H. Glioblastoma multiforme therapy and mechanisms of resistance. **Pharmaceuticals**, v. 6, n. 12, p. 1475-1506, 2013.

SAIKOLAPPAN S.; KUMAR, B.; SHISHODIA, G.; KOUL, S.; KOUL, H. K. Reactive oxygen species and cancer: A complex interaction. **Cancer Letters**, v. 452, p. 132-143, 2019.

THAKKAR, J. P.; DOLECEK, T. A.; HORBINSKI, C.; OSTROM, Q. T.; LIGHTNER, D. D.; BARNHOLTZ-SLOAN, J. S; VILLANO, J. L. Epidemiologic and molecular prognostic review of glioblastoma. **Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers**, v. 23, n. 10, p. 1985-1996, 2014.