

EFEITO CITOTÓXICO SELETIVO DE ÁCIDO GÁLICO SOBRE LINHAGEM DE GLIOBLASTOMA MULTIFORME DE RATO

FRANCIELI DA SILVA DOS SANTOS¹; NATHALIA STARK PEDRA²; NATÁLIA PONTES BONA³; LORENÇO TORRES MENDONÇA⁴; ROSELIA MARIA SPANEVELLO⁵; FRANCIELI MORO STEFANELLO⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – tessmerfran@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – nathaliastark@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – natinhabona@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – lorencotorres@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – rspanevello@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – fmstefanello@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O Glioblastoma multiforme (GBM) é um tumor cerebral primário altamente invasivo que apresenta múltiplas alterações gênicas (RAMIREZ et al., 2013) e resistência às terapias convencionais (Torres et al., 2017). Os pacientes acometidos pelo GBM têm sobrevida média de um ano (RAMIREZ et al., 2013), por isso são necessárias novas abordagens terapêuticas capazes de melhorar o prognóstico dos pacientes, reduzindo a malignidade do tumor.

Neste sentido, os produtos naturais consistem em uma interessante fonte de compostos bioativos. O ácido gálico (AG), um polifenol encontrado em méis de eucalipto e aroeira (NASCIMENTO, 2016), vinho tinto (LIMA, 2014), morangos (MUSA et al., 2015), exibe diversas propriedades farmacológicas, dentre elas pode-se citar ação antitumoral (LU et al., 2010; LOCATELLI et al., 2013).

Considerando o exposto, este trabalho visa avaliar a capacidade antiproliferativa e citotóxica do AG em linhagem de GBM de rato (C6), assim como seu efeito sobre cultivo primário de astrócitos.

2. METODOLOGIA

2.1 Cultivo de linhagem de GBM e cultura primária de astrócitos

A linhagem de GBM 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 placas de 96 poços em densidade de 5×10^3 células por poço e mantidas sob condições padrões de cultivo celular (5% CO₂, temperatura a 37 °C e atmosfera umidificada).

O cultivo primário de astrócitos corticais de ratos Wistars neonatos (1-2 dias) foi realizado conforme DA FROTA et al. (2009). As células foram semeadas em uma densidade de 3×10^4 células por poço (placas de 96 poços) e mantidas em condições padrões de cultivo por 15 dias. Todos os procedimentos envolvendo animais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPel (CEEA 31292-2018).

2.2 Citotoxicidade em linhagem GBM e cultura primária de astrócitos

O tratamento com AG foi efetuado nas concentrações de 50, 100, 200, 300, 400 e/ou 500 µM no período de 48 horas. Células não tratadas foram utilizadas como controle.

A viabilidade celular foi avaliada mediante ensaio de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina (MTT) conforme reportado por MOSMMAN (1983), o qual baseia-se na determinação de células metabolicamente viáveis. Já

o teste de proliferação celular foi realizado utilizando o reagente de cor Sulforodamina B, de acordo com PAUWELS et al. (2003), que por sua vez quantifica proteínas celulares.

2.3 Análise estatística

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

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo observamos que o AG reduziu a viabilidade celular da linhagem de GBM nas concentrações de 200, 300, 400 e 500 μM em 27%, 35%, 52% e 55%, respectivamente (Figura 1A). Além disso, o AG exibiu um efeito antiproliferativo nas concentrações de 200, 300, 400, 500 μM , reduzindo a proliferação celular em 39%, 59%, 64% e 72% respectivamente, após 48 horas de tratamento (Figura 1B).

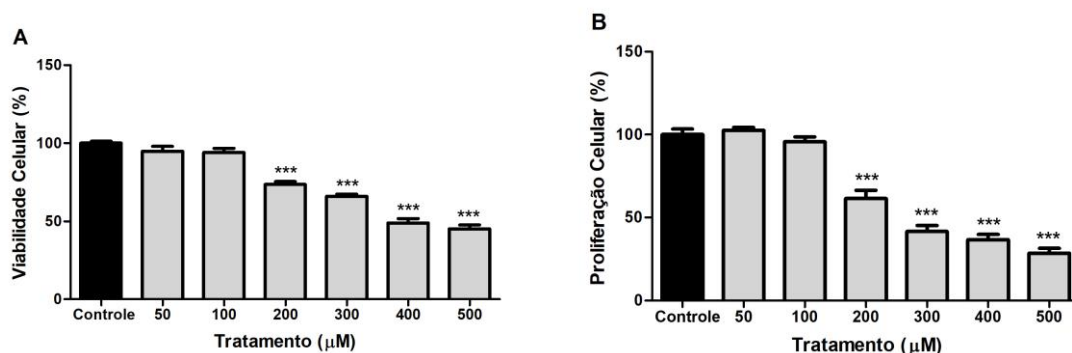


Figura 1. Análise citotóxica (A) e antiproliferativa (B) do ácido gálico em linhagem de GBM de ratos (C6), após 48 horas de tratamento. Os dados foram expressos como média $\pm$ erro padrão, analisados por ANOVA seguido de post-hoc de Tukey. *** Significativamente diferente do controle.

Quanto aos efeitos citotóxicos sobre o cultivo primário de astrócitos (Figura 2), é possível observar que o AG não promoveu qualquer alteração na viabilidade ou proliferação celular, sugerindo efeito seletivo pelo GBM.

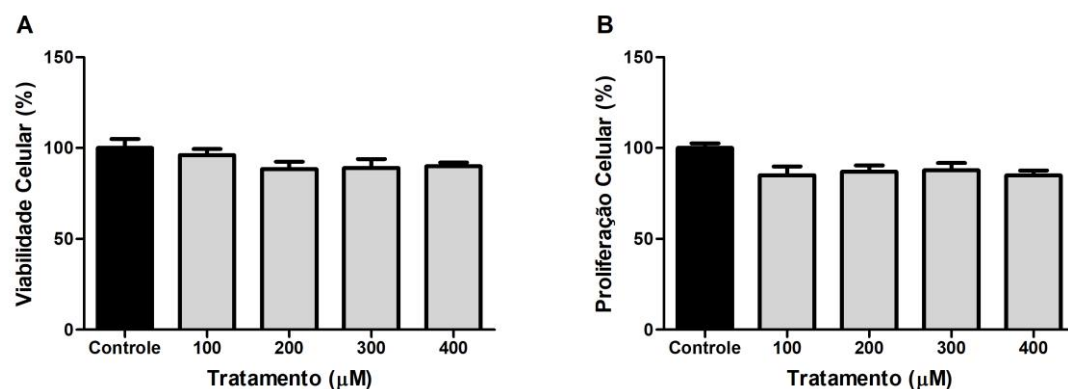


Figura 2. Análise da viabilidade (A) e proliferação celular (B) do ácido gálico em cultivo primário de astrócitos. Os dados foram expressos como média $\pm$ erro padrão, analisados por ANOVA seguido de post-hoc de Tukey.

4. CONCLUSÕES

O AG foi capaz de reduzir a proliferação celular de linhagem de GBM, assim como afetar sua viabilidade, sem apresentar tais alterações em célula saudável do SNC, como os astrócitos de ratos. Diante do exposto, pode-se inferir que esse composto fenólico exibe interessante potencial antiglioma. Contudo, mais estudos são necessários a fim de elucidar os possíveis mecanismos de ação envolvidos nos efeitos apresentados pelo AG.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DA FROTA MLJ, BRAGANHOL E, CANEDO AD, KLAMT F, APEL MA, MOTHES B, et al. Brazilian marine sponge *Polymastia janeirensis* induces apoptotic cell death in human U138MG glioma cell line, but not in a normal cell culture. **Investigational New Drugs**, v. 27, p. 13-20, 2009

LIMA, K. G. **AVALIAÇÃO DO EFEITO DO ÁCIDO GÁLICO NO TRATAMENTO DE CÉLULAS DE HEPATOCARCINOMA HEPG2**. 2014. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, da Faculdade de Biociências da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

LOCATELLI, C.; FILIPPIN MONTEIRO, F. B.; CRECZYNSKI PASA, T. B. Alkyl esters of gallic acid as anticancer agents: a review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 60, p. 233-239, 2013.

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.

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.

MUSA, C. I.; WEBER, B.; GALINA, J.; LAGEMANN, C. A.; SOUZA, C. F. V.; OLIVEIRA, E. C. Teor de compostos bioativos em três cultivares de morangos cultivados em solo convencional no município de Bom Princípio/RS: sua importância para a saúde humana. **Caderno pedagógico**, v. 12, n. 1, p. 56-66, 2015.

NASCIMENTO, K. S. **COMPOSTOS FENÓLICOS, CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE MÉIS DE *APIS MELLIFERA* DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL**. 2016. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos, da Universidade de São Paulo.

PAUWELS B, KORST AE, DE POOTER CM, PATTYN GG, LAMBRECHTS HA, BAAY MF, et al. Comparison of the sulforhodamine B assay and the clonogenic assay for in vitro chemoradiation studies. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 51, p. 221-226, 2003

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.

TORRES, Á. S., ERICES, J. I., URIBE, D. A., HOWDEN, J., NIECHI, I., MUÑOZ, S., ... QUEZADA, C. A. Current therapeutic alternatives and new perspectives in glioblastoma multiforme. **Current Medicinal Chemistry**, v. 24, n. 25, p. 2781–2795.