

**AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOTÓXICO DO TRATAMENTO COM A FRAÇÃO
CLOROFÓRMICA DO EXTRATO DE *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook.) Tronc. EM
LINHAGENS DE GLIOMA***

**MARCELO MORAES SEVERO^{1,2}, NESSANA DARTORA^{2,3}, LAUREN LÚCIA
ZAMIN^{2,4}**

1 Introdução

Gliomas são tumores primários do sistema nervoso central com uma elevada heterogeneidade de fatores moleculares que afeta o prognóstico e a resposta às terapias (Barthel et al., 2021). As células do Glioblastoma (GBM) adquirem adaptações genéticas e metabólicas incluindo mudanças no metabolismo energético, capacidade invasiva, migração e angiogênese que acabam por terem difíceis abordagens de tratamento (Delgado-Martín., 2020).

De acordo com o Instituto Nacional de câncer (INCA, 2026) são estimados aproximadamente 10 a 12 mil casos de tumores do sistema nervoso central no Brasil nesse triênio de 2026-2028, destacando o GBM pela elevada agressividade e seu prognóstico adverso. Delgado-Martín et al. (2020) relatam que a sobrevida mediana após o diagnóstico é de 12 a 15 meses, com menos de 10% dos pacientes sobrevivendo além de 5 anos. Os tratamentos convencionais, como a radioterapia, a quimioterapia concomitante com temozolamida e a ressecção cirúrgica (Oronsky et al., 2021), resultam em pouco aumento na sobrevida. Assim, busca-se alternativas para tratar essa doença, entre elas o uso de extratos vegetais.

A planta *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook.) Tronc, nativa América do Sul e pertencente à família Verbenaceae (Flora e Funga do Brasil, 2026) é utilizada na medicina popular para tratar problemas respiratórios e como calmante, antiespasmódico e diurético com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (SOUZA et al., 2022). Em estudos anteriores do nosso grupo foi demonstrado que a *Aloysia gratissima* apresenta efeito citotóxico em

1 Acadêmico do curso de ciências biológicas licenciatura, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Cerro Largo, contato: marcelo.severo@estudante.uffs.edu.br

2 Grupo de Pesquisa: GP Biociências UFFS

3 Profa. Dra. em Ciências (Bioquímica), Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Cerro Largo

4 Profa. Dra. em Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Cerro Largo.

Orientadora

* Título do projeto vinculado: AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOTÓXICO DO TRATAMENTO CRÔNICO COM A FRAÇÃO CLOROFÓRMICA DO EXTRATO DE *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook.) Tronc. EM LINHAGEM DE GLIOMA DE RATO C6

linhagens de glioma de rato C6 e humana U251, sendo a fração de clorofórmica a com maior efeito (FARIAS, 2024).

2 Objetivos

O objetivo desse estudo foi investigar prováveis mecanismos pelo qual o extrato clorofórmico desta planta apresenta citotoxicidade, tais como a promoção da senescência celular e o efeito sobre a migração celular.

3 Metodologia

Para obtenção do extrato, as folhas de *Aloysia gratissima* foram coletadas, lavadas, secas e trituradas até a obtenção de um pó fino. Em seguida, o material foi submetido à extração com clorofórmio para obtenção dos compostos bioativos. Após o processo de extração, o solvente foi removido sob pressão reduzida, obtendo-se o extrato clorofórmico (CE) bruto, que foi armazenado em condições adequadas e posteriormente utilizado nos ensaios biológicos. O acesso ao patrimônio genético foi cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), sob o cadastro nº: A9844C8.

As linhagens de células C6 (GBM de rato) e U251 (GBM humano) foram cultivadas em DMEM, suplementado com 5% e 10% de soro fetal bovino respectivamente e mantidas em incubadora a 37 °C.

Para a avaliação da senescência celular, foi realizado o ensaio de atividade da β galactosidase (SA- β -gal). Após atingirem o crescimento adequado as células foram plaqueadas em placas de seis poços e tratadas com o extrato CE de *Aloysia gratissima* nas concentrações de 25 e 75 μ g/mL por 24 horas. Os controles foram realizados utilizando o veículo DMSO. Após o período de tratamento as células foram fotografadas e analisadas no software ImageJ para medição da senescência.

A migração celular foi avaliada por meio do ensaio de fechamento de ferida (*scratch assay*). As células foram plaqueadas em placas de 6 poços. Após 24h, com a formação da camada celular na placa, foi realizada uma lesão linear com o auxílio de uma ponteira estéril. Em seguida as células foram tratadas com o extrato CE e fotografadas nos tempos de 0, 6, 24 e 48 horas, permitindo acompanhar o fechamento da área da ferida. Para a medição do fechamento da ferida as imagens foram analisadas no software ImageJ.

Os dados foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão de três experimentos independentes ($n = 3$), em triplicata. As diferenças entre os grupos foram avaliadas por meio de ANOVA de uma via, seguida do teste de Tukey para comparações múltiplas. As análises estatísticas foram realizadas no Microsoft Excel, adotando-se $p < 0,05$ como nível de significância.

4 Resultados e Discussão

O tratamento com o extrato CE no tempo e nas concentrações testadas não promoveu alterações significativas na senescência celular, nas condições experimentais apresentadas, levando em consideração que não pode descartar outras concentrações e períodos mais prolongados de exposição do extrato.

Porém, no ensaio do fechamento da ferida (*scratch assay*), foi observado que as células tratadas com CE tanto com 25 quanto com 75 $\mu\text{g/mL}$ não foram capazes de realizar o fechamento do risco comparando com as células controle, conforme observado na figura 1

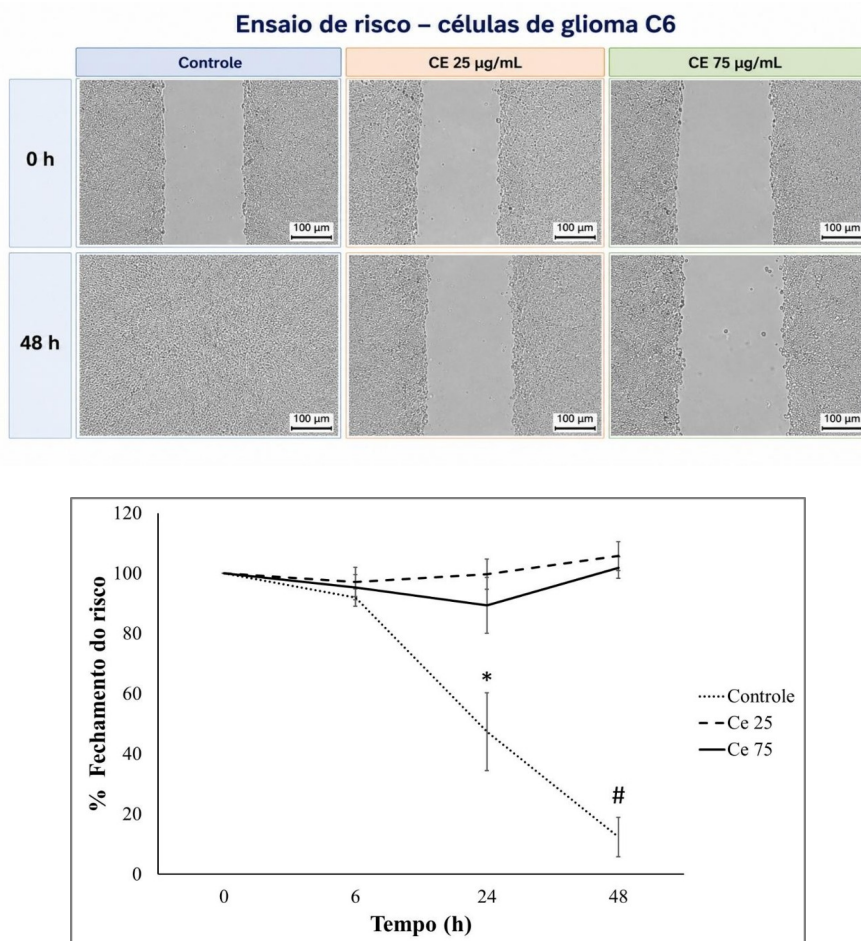


Figura 1 – Efeito do extrato CE de *Aloysia gratissima* sobre a migração de células de glioma C6.

Imagem superior: Imagens representativas do ensaio de risco nos tempos de 0 e 48 horas, nos grupos controle (C) e tratados com 25 e 75 µg/mL do extrato CE. Na parte inferior, o gráfico apresenta o percentual da área inicial do risco ao longo dos tempos analisados.

Fonte: Elaborado pelo autor (2026).

Os resultados do ensaio de risco demonstraram que no grupo controle ocorreu diminuição constante na área da lesão com a migração celular e o fechamento de aproximadamente 50% em 24 horas e de quase 90% em 48 horas. Por outro lado, as células tratadas com o extrato CE de *Aloysia gratissima*, nas concentrações de 25 e 75 µg/mL, mantiveram uma grande porção da área original da lesão do risco ao longo do experimento.

Esse comportamento mostra uma redução na capacidade das células tratadas de migrar sendo um possível efeito antimigratório do extrato, o resultado é relevante considerando a elevada capacidade de migração e invasão das células tumorais dos gliomas, com tudo a manutenção da área aberta ao longo de 48 horas sugere que o efeito do extrato foi persistente durante o período avaliado.

5 Conclusão

Os resultados demonstram que o extrato CE de *A. gratissima*, nas concentrações de 25 e 75 µg/mL, não promoveu alterações significativas na senescência celular nas condições avaliadas. Entretanto, o tratamento reduziu a capacidade migratória das células de glioma C6, mantendo uma maior área da lesão ao longo do ensaio de fechamento de ferida quando comparado ao grupo controle. Os achados indicam que o extrato clorofórmico de *A.gratissima* apresenta potencial de interferir na migração de células de glioma, sendo necessários estudos complementares para melhor compreender os mecanismos envolvidos nesse efeito.

Referências Bibliográficas

BARTHEL, Lennart et al. Glioma: molecular signature and crossroads with tumor microenvironment. *Cancer and Metastasis Reviews*, v. 41, p. 53–75, 2021. DOI: 10.1007/s10555-021-09997-9.

DELGADO-MARTÍN, Belén; MEDINA, Miguel Ángel. Advances in the knowledge of the molecular biology of glioblastoma and its impact in patient diagnosis, stratification, and treatment. *Advanced Science*, v. 7, n. 9, e1902971, 2020. DOI: 10.1002/advs.201902971.

FARIAS, Ariély Lencina de. *Avaliação do potencial citotóxico de extratos da planta Aloysia gratissima (Gillies & Hook.) Tronc. em linhagens de glioblastoma*. 2024. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Cerro Largo, Cerro Largo, 2024.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. *Estimativa 2026: incidência de câncer no Brasil*. Rio de Janeiro: INCA, 2026. 168 p. Disponível em: <https://ninho.inca.gov.br/jspui/handle/123456789/17914>. Acesso em: 5 ago. 2026.

JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. *Aloysia gratissima (Gillies & Hook.) Tronc.* In: FLORA E FUNGA DO BRASIL. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2026. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: 5 ago. 2026.

ORONSKY, Bryan et al. A review of newly diagnosed glioblastoma. *Frontiers in Oncology*, v. 10, e574012, 2021. DOI: 10.3389/fonc.2020.574012. Disponível em:

SOUZA, Maryelen Alijar et al. Biological properties of *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook.) Tronc. (Verbenaceae). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2022, art. 1119435, p. 1–8, 2022. DOI: 10.1155/2022/1119435.

Palavras-chave: Glioblastoma; Senescência; Migração celular

Nº de Registro no sistema Prisma: PES-2025-0043

Financiamento: UFFS

