

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E FOTOQUIMIOPROTETORA DO TMBP EM CÉLULAS L-929 EXPOSTAS À RADIAÇÃO UVB

Matheus Eduardo Vieira Amaro (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Virgínia Santos Chagas, Sueli de Oliveira Silva Lautenschlager (Orientador). E-mail: lautenschlager@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Farmácia/ Farmacognosia

Palavras-chave: Fotoproteção; Radiação UVB; Antioxidante.

RESUMO

A pele, nossa principal barreira contra influências externas e agressões ambientais como a radiação solar, muitas vezes é excessivamente exposta aos raios UV durante as atividades diárias. Essa exposição pode causar danos significativos, incluindo eritema, envelhecimento prematuro e até melanoma. Esses efeitos são resultado do desequilíbrio entre a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) e a presença de antioxidantes em nosso organismo, os quais ajudam a neutralizar as ERO. Para combater esse desequilíbrio, busca-se compostos externos que possam atuar como antioxidantes. Um desses compostos em teste é o 3,3',5,5'-tetrametoxibifenil-4,4'-diol (TMBP). Este estudo tem como objetivo avaliar a capacidade antioxidante e fotoquimioprotetora do TMBP em células L-929 expostas à radiação UVB. Os resultados dos experimentos indicam que o TMBP apresenta atividade antioxidante, combatendo o radical ânion superóxido. Além disso, ele não demonstrou toxicidade celular e, de fato, aumentou a viabilidade de fibroblastos expostos à radiação UVB. Essa proteção parece estar relacionada à capacidade do TMBP de inibir a formação de ERO induzidas pela radiação UVB. Em resumo, o composto TMBP surge como uma promissora opção para prevenir danos na pele causados pela radiação ultravioleta. Seus efeitos antioxidantes e capacidade de proteção contra os efeitos nocivos dos raios UVB o tornam um candidato interessante para futuros tratamentos e produtos de cuidados com a pele.

INTRODUÇÃO

A energia solar, ou radiação ultravioleta (UV), pode ser subdividida em três categorias distintas: UVA, UVB e UVC. A radiação UVC, até o momento, não recebeu ampla pesquisa devido à sua absorção primária pela camada de ozônio. Entretanto, a população está constantemente exposta aos raios UVA e UVB. Enquanto a radiação UVA atinge predominantemente a derme, a radiação UVB penetra a epiderme e afeta a derme em suas consequências (SOUZA *et al.*, 2004). Uma das consequências desse processo é o surgimento do estresse oxidativo, caracterizado pela formação excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs) (AFAQ, 2011). Os antioxidantes representam substâncias com habilidade para

prevenir, neutralizar ou retardar os impactos gerados pelas EROs na pele (COTINGUIBA *et al.*, 2013).

Um composto sob investigação como agente antioxidante é o 3,3',5,5'-tetrametoxibifenil-4,4'-diol (TMBP), cuja obtenção envolve técnicas orgânicas convencionais, como síntese química, ou abordagens de biocatálise através de reações de acoplamento oxidativo catalisadas pela enzima lacase (SCHIRMANN *et al.*, 2018). Assim, este estudo investigou o composto TMBP avaliando sua atividade antioxidante, efeito na viabilidade celular sob radiação UVB e produção de ERO totais.

MATERIAIS E MÉTODOS

O composto TMBP foi resultante da oxidação biocatalítica do 2,6 dimetoxifenol (2,6 DMF) pela lacase fúngica de *Botryosphaeria Rhodina*. Glicina, Xantina, Luminol, Xantina Oxidase, HBSS (solução salina tamponada de Hank) e DPI (Difenilenoiodônio) foram adquiridos da Sigma-Aldrich, enquanto DMEM (Meio de Águia Modificado de Dulbecco) e Soro Fetal Bovino (SFB) foram obtidos da Gibco. Vermelho Neutro (NR) veio da Interlab, e H2DCFDA da Molecular Probes.

No ensaio Xantina/XOD/Luminol, foi preparado um meio com tampão glicina, xantina e luminol. 560 µL desse meio foram misturados com 10 µL de soluções diluídas de TMBP em várias concentrações e xantina oxidase. A leitura ocorreu num luminômetro, gerando um radical superóxido e quimioluminescência.

Fibroblastos murinos L-929 foram cultivados em DMEM com 10% SFB e antibióticos a 37 °C com CO₂ e umidade controlados, sendo subcultivados periodicamente após confluência. As células foram inicialmente cultivadas em microplacas de 96 poços, expostas a concentrações de TMBP por 24 horas e tratadas com Vermelho Neutro para avaliar a viabilidade. O efeito do TMBP na viabilidade celular sob radiação UVB também foi examinado.

ERO totais foram detectadas com H2DCFDA, que fluoresce na presença de ERO. Células tratadas com TMBP, marcadas com H2DCFDA, irradiadas com UVB e a fluorescência foi medida.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram avaliados os efeitos antioxidantes do composto TMBP em diferentes concentrações, comparados ao padrão quercetina. A análise usou quimioluminescência no sistema Xantina/XOD/Luminol. Os resultados (Tabela 1) mostram que o TMBP possui atividade antioxidante superior à quercetina.

Tabela 1. Avaliação do potencial antioxidante do TMBP, em ensaio livre de células pelo sistema Xantina/XOD/Luminol. A quercetina foi utilizada como substância padrão antioxidante.

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	
SUBSTÂNCIAS	XANTINA OXIDASE (IC ₅₀ (μM))
TMBP	0,37 ± 0,02
Quercetina	0,63 ± 0,02

Os resultados foram expressos como média ± DP (n=3).

Quanto à viabilidade celular, o TMBP não foi tóxico para as células L-929 em nenhuma concentração e estimulou o crescimento, especialmente na menor concentração (25%), comparado ao controle negativo (Figura 1A). Na avaliação da viabilidade celular com exposição às radiações UVB (Figura 1B), todas as concentrações de TMBP reduziram significativamente a citotoxicidade induzida pela radiação, semelhante à quercetina. Os resultados de ERO Totais (Figura 1C) indicaram que o TMBP inibiu eficazmente a geração de ERO pela radiação UVB nas células L-929 em todas as concentrações testadas, sendo mais eficaz que o controle DPI, que inibe a NADPH oxidase e a formação de radicais ânion superóxido.

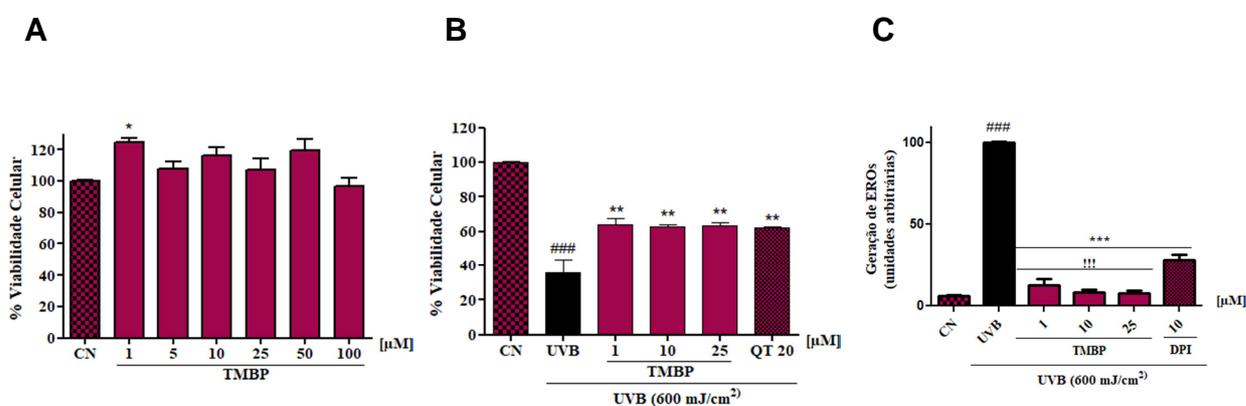


Figura 1-A: Viabilidade dos fibroblastos L-929 após tratamento com TMBP por 24 horas, indicando diferença significativa em relação ao controle não tratado (* $p < 0.1$). **B:** Viabilidade das células L-929 após exposição à radiação UVB e tratamento com TMBP, com diferenças significativas em relação aos controles não tratados e irradiados (### $p < 0.001$, ** $p < 0.01$). **C:** Efeito do TMBP em diferentes concentrações na produção de espécies reativas de oxigênio em fibroblastos L-929 irradiados com UVB, com significância em relação aos controles não tratados e irradiados, assim como ao controle positivo (### $p < 0.001$, *** $p < 0.001$, !!! $p < 0.001$).

CONCLUSÕES

Este estudo conclui que o composto avaliado, TMBP, apresenta potencial antioxidante. Ele não é tóxico para células L-929 e exibe capacidade protetora contra radiação UVB, além de inibir a geração de espécies reativas de oxigênio, mostrando resultados equivalentes ou superiores aos controles e padrões utilizados. Assim, o TMBP possui potencial para se tornar um componente promissor em formulações de proteção fotoquímica.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Fundação Araucária ao CNPq e à PPG-UEM pelo apoio e Bolsa de Iniciação Científica.

REFERÊNCIAS

AFAQ, Farrukh. Natural agents: cellular and molecular mechanisms of photoprotection. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 508, n. 2, p. 144-151, 2011. Acesso em: 20 de jun. de 2023.

COTINGUIBA, George Gomes et al. Método de avaliação da defesa antioxidante: uma revisão de literatura. **Journal of Health Sciences**, v. 15, n. 3, 2013.

DE SOUZA, Sonia RP; FISCHER, Frida M.; DE SOUZA, José MP. Suntanning and risk of cutaneous melanoma: a literature review. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, p. 588-598, 2004. Acesso em: 20 de jun. de 2023.

SCHIRMANN, Jeseka G. et al. 3, 3', 5, 5'-tetramethoxybiphenyl-4, 4'-diol: A new antioxidant enhancing oxidative stability of soybean biodiesel. **Fuel**, v. 237, p. 593-596, 2019. Acesso em: 20 de jun. 2023.