

DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO 3,3',5,5'-TETRAMETOXIBIFENIL-4,4'-DIOL (TMBP) E SUA AÇÃO NA MORFOLOGIA DE FIBROBLASTOS L-929 IRRADIADOS COM UVB

Clara Fernandes Torre (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Virgínia Santos Chagas, Bruna Terra Alves da Silva, 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: Ciências da Saúde/Farmácia

Palavras-chave: Fotoproteção; Radiação UVB; Antioxidante.

RESUMO

A exposição à luz solar afeta os organismos de diversas maneiras devido a alta energia da radiação ultravioleta B (UVB). Ela consegue penetrar na epiderme, causando danos diretos ao DNA e danos indiretos via produção de espécies reativas de oxigênio (EROs). Quando em excesso, essas EROs superam a defesa antioxidante do organismo e diante disso, substâncias antioxidantes são estudadas com o objetivo de auxiliar na fotoproteção e manter o equilíbrio redox. O 3,3',5,5'-tetrametoxibifenil-4,4'-diol (TMBP) demonstrou ação antioxidante in vitro, podendo ser um composto promissor na prevenção de danos induzidos pela radiação solar.

INTRODUÇÃO

A pele é uma barreira protetora e está diretamente exposta aos efeitos nocivos da radiação solar, como queimaduras, fotodermatoses e câncer de pele. A radiação que atinge a pele pode ser dividida em três faixas com base em suas características de propagação e efeito biológico, sendo a UVA e a UVB aquelas que alcançam a Terra e causam danos cutâneos (SOLANO, 2020).

A UVB, altamente energética, penetra a epiderme e induz danos diretos ao DNA e indiretos, via produção de espécies reativas de oxigênio. As EROs envolvem radicais livres de oxigênio, altamente instáveis como o ânion superóxido, grupo hidroxila, peróxido de hidrogênio e oxigênio singlete, que participam de reações causando danos ao DNA, biomoléculas e membranas celulares. (CHAUDHARY P.; 2023). O desequilíbrio redox é atingido quando enzimas antioxidantes são diminuídas e não conseguem neutralizar essas espécies. A alteração nessa homeostasia gera o estresse oxidativo, com degradação de colágeno e aceleração do envelhecimento cutâneo (JAKUBCZYK K., 2020).

Dessa maneira, antioxidantes são essenciais para a saúde da pele, pois neutralizam EROs e previnem o estresse oxidativo (GEĞOTEK, 2020). Considerando esse papel, o TMBP demonstrou potencial antioxidante em ensaios livres de células, sugerindo ser um composto promissor para proteção solar. Assim, o objetivo deste estudo foi investigar os possíveis mecanismos de ação do TMBP

como agente fotoquimioprotetor em fibroblastos L-929 submetidos à radiação UVB.

MATERIAIS E MÉTODOS

Determinação do perfil de absorção e avaliação da fotodegradação do TMBP.

Para determinar o perfil de absorção do TMBP, compostos foram diluídos em DMSO (dimetilsulfóxido) na concentração final de 50 µg/ml, alíquotas de 1 mL foram colocadas em cubetas de quartzo e as medições imediatamente feitas na faixa de 220 a 420 nm. Para fotodegradação, a substância foi avaliada nas mesmas condições, porém irradiada com UVB (600mJ/cm²), e as absorbâncias foram registradas em espectrofotômetro no intervalo de 220 a 420 nm.

Avaliação da atividade antioxidante utilizando FRAP e inibição do NO.

A avaliação da atividade antioxidante com redutor férrico (FRAP) testou diferentes concentrações de amostras (30µl) misturadas com 150 µl de solução FRAP. Essa mistura foi incubada durante 30 min e as absorbâncias medidas a 595 nm. A eficácia relativa foi obtida em TEAC- capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (controle positivo). Para NO, utilizamos células L-929, as quais foram tratadas com TMBP por 1 hora, lavadas com PBS e irradiadas com UVB (600mJ/cm²). Após 24 horas as células foram marcadas com DAF-FM DA, incubadas por 30 min em estufa e lidas com citômetro de fluxo.

Avaliação da morfologia celular.

Para avaliar alterações morfológicas celulares, fibroblastos L-929 foram cultivados, tratados com TMBP por 1 hora, lavados com PBS e irradiados com UVB (600mJ/cm²). Após 24 horas as células foram visualizadas em microscópio óptico e as imagens foram capturadas usando Olympus@Câmera DP80.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A **Figura 1** mostra a capacidade de absorção do composto TMBP dentro da faixa de 220 a 420 nm. O perfil de absorção foi caracterizado com um pico intenso encontrado em 290 nm, o que indica potencial para absorção de radiação UVB, sugerindo sua aplicação como fotoprotetor.

Quando analisada a fotodegradação, busca-se identificar se esses picos se mantêm ou diminuem após a radiação. No caso do TMBP, o pico de absorção aparece reduzido, o que mostra uma instabilidade e degradação estrutural do composto devido à radiação UVB.

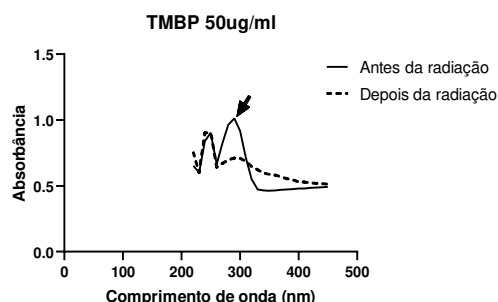


Figura 1 - Avaliação do perfil de absorção e fotodegradação do TMBP na concentração de 50 µg/mL.

A **Tabela 1** apresenta, a partir da absorbância equivalente ao Trolox encontrada, que o composto TMBP possui capacidade de redução de íons férrico em ferroso e consequentemente um potencial antioxidante, quando comparado à quercetina, um antioxidante de atividade conhecida.

Tabela 1. Avaliação da atividade antioxidante TMBP em sistemas livres de células através do método FRAP.

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	
SUBSTÂNCIA	FRAP TEAC ± DP
Quercetina	3,15 ± 0,46
TMBP	0,33 ± 0,09

Quercetina: controle positivo; TMBP: 3,3',5,5'-Tetrametoxibifenil-4,4'-diol; capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (µmol ET/mg); DP: desvio padrão.

A **Figura 2** mostra os resultados da morfologia celular em fibroblastos L-929 tratados com TMBP e irradiados com UVB. Sabe-se que a radiação UVB possui potencial para induzir alterações morfológicas, como arredondamento das células demonstrado com as setas. Esse efeito foi reestruturado quando comparado com o tratamento, obtendo maior quantidade de células com seus citoplasmas estrelados semelhante ao controle negativo (células sem tratamento e sem radiação).

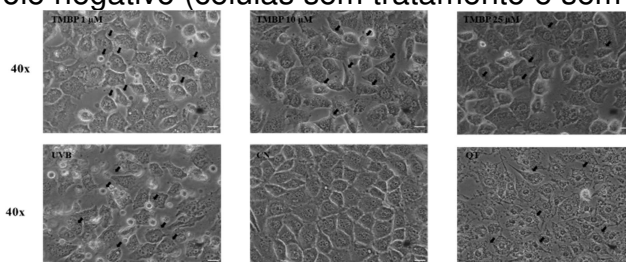


Figura 2. Avaliação da morfologia em células L-929 tratadas com TMBP e irradiadas com UVB. CN: controle negativo; células não tratadas e não irradiadas; UVB: células irradiadas com UVB (600 mJ/cm²); TMBP: células irradiadas e tratadas com TMBP (1 - 25 µM); QT: células tratadas com quercetina (20 µM). Alterações morfológicas demonstradas com setas pretas.

A **Figura 3** mostra os resultados da ação antioxidante do TMBP ao inibir a produção de óxido nítrico por fibroblastos L-929 quando irradiados com UVB. O corante DAF-FM DA foi utilizado para detectar esse NO intracelular causado pelo

estresse oxidativo induzido pela radiação.

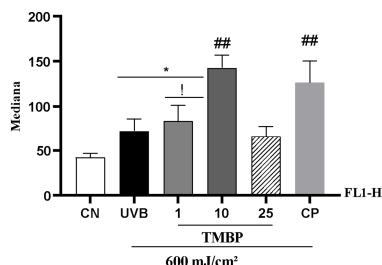


Figura 3. Avaliação da atividade antioxidante do TMBP ao inibir a produção de óxido nítrico por células. CP (controle positivo): Trolox; UVB: células não tratadas e irradiadas; CN: células não tratadas e nem irradiadas. * $p < 0.001$ comparado ao CN. ## $p < 0.001$, comparado ao UVB. ! $p < 0.001$, comparado ao 10.

CONCLUSÕES

O TMBP apresentou atividade antioxidante, preveniu o fotodano em fibroblastos L-929, modulou o estado redox celular e inibiu a produção de óxido nítrico, evidenciando seu potencial como agente protetor contra os efeitos da radiação UVB e contribuindo para a manutenção da morfologia celular.

AGRADECIMENTOS

À Fundação Araucária, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Universidade Estadual de Maringá, ao Laboratório de Inovação Tecnológica no Desenvolvimento de Fármacos e Cosméticos.

REFERÊNCIAS

CHAUDHARY, P.; JANMEDA, P.; DOCEA, A. O.; YESKALIYEVA, B.; ABDULL RAZIS, A. F.; MODU, B.; CALINA, D.; SHARIFI-RAD, J. Oxidative stress, free radicals and antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. **Frontiers in Chemistry**, [s. l.], v. 11, p. 1158198, 10 maio 2023.

GEȢOTEK, A.; DOMINGUES, P.; SKRZYDLEWSKA, E. Natural Exogenous Antioxidant Defense against Changes in Human Skin Fibroblast Proteome Disturbed by UVA Radiation. **Oxidative Medicine and Cell Longevity**, [s. l.], v. 2020, p. 3216415, 5 nov. 2020.

JAKUBCZYK, K.; DEC, K.; KAŁDUŃSKA, J.; KAWCZUGA, D.; KOCHMAN, J.; JANDA, K. Reactive oxygen species - sources, functions, oxidative damage. **Polski Merkuriusz Lekarski**, [s. l.], v. 48, n. 284, p. 124-127, 22 abr. 2020.

SOLANO, F. Photoprotection and Skin Pigmentation: Melanin-Related Molecules and Some Other New Agents Obtained from Natural Sources. **Molecules**, [s. l.], v. 25, n. 7, p. 1537, 27 mar. 2020.