

### INVESTIGAÇÃO DOS EFEITOS DO ROUND-UP®, GLIFOSATO E AMPA SOBRE UMA LINHAGEM DE GLIOBLASTOMA

***Bruna Ester Grumicker Pereira***

*Universidade Federal da Fronteira Sul  
brunaestergp@hotmail.com*

***Lauren Lucia Zamin***

*Universidade Federal da Fronteira Sul  
lauren.zamin@uffs.edu.br*

***Eixo 09: Multidisciplinar***

Os tumores mais frequentes que atingem o sistema nervoso central são os glioblastomas, tumores agressivos com altas taxas de mortalidade e baixa sobrevida dos pacientes. Nesse sentido, cada vez mais buscam-se tratamentos inovadores que sejam eficazes e contribuam positivamente para a sobrevida dos pacientes acometidos com este tumor. O Glifosato é um herbicida de amplo espectro, pós-emergente e não seletivo que mata ou suprime com efetividade todos os tipos de plantas. Uma vez disposto no ambiente, o Glifosato é adsorvido ao solo e decomposto pelos microrganismos do solo em ácido aminometilfosfônico (AMPA). Este composto pode ser tão tóxico quanto o Glifosato e quando aplicado em doses baixas se comporta como um regulador e dessecante do crescimento das plantas. O produto a base de Glifosato mais conhecido e difundido mundialmente é o Round-up®. Este herbicida possui, além do Glifosato, diversos surfactantes que ampliam seu potencial de ação. A busca por compostos com propriedades antitumorais é de extremo interesse farmacêutico, e alguns estudos já indicaram que o Glifosato e seu principal metabólito, o AMPA, podem inibir a proliferação e promover apoptose das células cancerosas, sugerindo assim, que estes compostos têm potencial para desenvolver uma nova terapia anticancerígena. Portanto, o objetivo deste estudo foi investigar os possíveis efeitos citotóxicos do Round-up®, Glifosato e AMPA sobre a linhagem de glioblastoma humano U251 e verificar o potencial oxidante destes compostos. Para verificar a viabilidade celular, realizou-se o teste de MTT [3-(4,5-diamethyl 2-thiazolyl) 2,5 diphenyl-2H-tetrazolium], que é convertido pelas células viáveis em um cristal azul formazam que pode ser quantificado. Para tal, as células foram plaqueadas em placas de 96 poços na densidade de 10 mil células/poço e posteriormente tratadas com diferentes concentrações de Round-up®, Glifosato e AMPA (1, 10, 25, 50 e 100 µg mL<sup>-1</sup>) no período de 24, 48 e 72 horas. Após este período, as células foram incubadas com MTT (5 mg/mL) por 4h em 37°C/5% de CO<sub>2</sub>. A coloração obtida foi extraída com dimetilsulfóxido (DMSO) e a densidade óptica lida em um leitor de placas no comprimento de onda de 570

nm. Para quantificar o nível de peroxidação lipídica das células realizou-se o ensaio do TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico). Este método se baseia na reação de duas moléculas de ácido tiobarbitúrico com uma de malondialdeído (MDA), produzindo um complexo de coloração rósea que pode ser quantificado pela leitura em espectrofotômetro em um comprimento de onda de 532 nm. Para realizar o teste, as células foram plaqueadas em placas de 6 poços com as concentrações 3094,90  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para o AMPA, 1636,14  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para o Glifosato e 26,01  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para Round-up® por 24 e por 48h. As doses escolhidas referem-se ao IC<sub>50</sub> obtido com esses compostos após 48h de tratamento. Transcorrido o tempo de tratamento,  $1 \times 10^6$  células foram centrifugadas por 10 min a 2000 rpm. Após, removeu-se o sobrenadante e ressuspendeu-se as células em 500  $\mu\text{L}$  de ácido tricloroacético (TCA) 20%. As células foram homogeneizadas em sonicador e incubadas durante 15 minutos à temperatura ambiente. Após, adicionou-se 250  $\mu\text{L}$  de reagente TBA 1,2% para cada amostra, curva e branco. Os tubos foram incubados a 95°C por 30 min e transcorrido este período, determinou-se a densidade óptica usando um leitor de microplacas ajustado para 532 nm. Todos os experimentos aqui citados foram repetidos ao menos três vezes e em triplicata. A análise estatística foi realizada através do ensaio de ANOVA seguida de Tukey e os resultados foram considerados significativos quando apresentaram um  $p < 0,05$ . Como resultado, com relação a viabilidade celular, constatou-se que os compostos reduziram a viabilidade celular/proliferação das células U251 de maneiras distintas a depender da concentração e do tempo de exposição. Para o teste do TBARS, observou-se que o AMPA, Glifosato e Round-up® tanto em 24h quanto em 48h não causaram variações significativas de MDA por número de células com relação ao controle. Conforme podemos observar pelo resultado do IC<sub>50</sub>, o maior efeito citotóxico sobre a viabilidade celular foi causado pelo tratamento com Round-up® e o menor pelo AMPA. Esse efeito pode ser explicado em parte pela presença dos surfactantes na formulação do Round-up®, que facilitam a entrada deste composto nas células, podendo potencializar seu efeito citotóxico. Conforme exposto, muito ainda precisa ser estudado a fim de compreender a biologia destes tumores, seus mecanismos de tolerância e resistência a tratamentos e a busca por novos alvos terapêuticos, da mesma forma que é importante analisar os fatores ambientais capazes de corroborar para o surgimento e agravamento destes tumores.

**Palavras-chave:** Tumores. Estresse oxidativo. Citotoxicidade.

**Apoio Financeiro:** PROAP/CAPES; FAPERGS e Universidade Federal da Fronteira Sul; Bolsa institucional edital N° 174/GR/UFGS/2022.

LI, Q. et al. Glyphosate and AMPA inhibit cancer cell growth through inhibiting intracellular glycine synthesis. **Drug, Design, Development and Therapy**. v. 7, p. 635-643, 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3749059/>. Acesso em: 10 ago. 2022.

OSTROWSKI, R. P.; PUCKO, E. B Harnessing oxidative stress for anti-glioma therapy. **Neurochemistry International**. v. 154, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0197018622000067>. Acesso em: 11 ago. 2022.

STUR, E. et al. Glyphosate-based herbicides at low doses affect canonical pathways in estrogen positive and negative breast cancer cell lines. **Plos one**. v. 12, n. 7, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31295307/>. Acesso em: 08 ago. 2022.