

Efeito antitumoral da Doxazosina, um fármaco anti-hipertensivo, na linhagem U138 de glioma humano

Gabriela Zatti Bertola¹, Christianne Gazzana Salbego²

¹ Aluna da Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

² Laboratório de Neuroproteção e Sinalização Celular, Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.



UFRGS PROPSQ XXV SIC
Salão Iniciação Científica

CS - Ciências da Saúde

INTRODUÇÃO

Dentre os vários tipos de tumores do Sistema Nervoso Central, os mais frequentes e devastadores são os gliomas. A sobrevivência após o diagnóstico fica em torno de um ano. A doxazosina pertence à classe terapêutica dos alfa-bloqueadores adrenérgicos e é utilizada na clínica para o tratamento da hipertensão e retenção urinária. Há estudos sobre seu efeito antitumoral em câncer de próstata, no entanto, ainda não foram realizados estudos em modelos de gliomas. Portanto, a investigação do potencial terapêutico da doxazosina como um fármaco coadjuvante no tratamento de gliomas torna-se relevante. O objetivo desta pesquisa visa estudar o efeito da doxazosina em linhagem de glioma humano U138-MG *in vitro*.

MÉTODOS

A linhagem U138 foi cultivada e mantida em meio DMEM acrescido de 10% de soro fetal bovino em incubadora a 37°C com umidade de 95% e atmosfera de 5% de CO₂.

As células foram semeadas em placas de 24 ou 6 poços e mantidas por 48h. Após, foram tratadas com doxazosina (solução alcoólica 20%) por 48h nas concentrações de 5, 10, 15, 30, 50 e 75 µM. Os seguintes experimentos foram realizados:

▪ Avaliação da morte celular:

- **LDH:** medida da enzima Lactato Desidrogenase liberada no meio extracelular pelas células mortas.
- **Citometria de Fluxo com coloração de Anexina V/Iodeto de Propídio:** diferencia morte celular por necrose e apoptose.

▪ Estabilidade do fármaco no meio de cultivo:

 avaliada por HPLC.

▪ Captação do fármaco pelas células:

 avaliada através da autofluorescência da doxazosina, por citometria de fluxo.

RESULTADOS

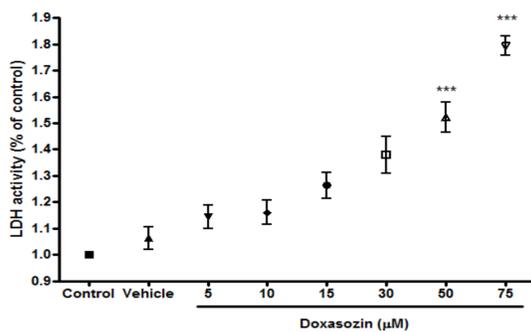


Figura 1. Medida da LDH: a Doxazosina aumentou a morte celular e, por conseguinte, a liberação desta enzima no meio extracelular após 48h de tratamento com as concentrações indicadas, em comparação com o controle. Média + D.P., ANOVA seguido de Tukey.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Huse et al. Glioblastoma: Molecular Analysis and Clinical Implications. *Annu. Rev. Med.* 64(2012)17.1–17.12
- Kirby RS, Doxazosin in benign prostatic hyperplasia: effects on blood pressure and urinary flow in normotensive and hypertensive men. *Urology* 1995, 46:182–186.

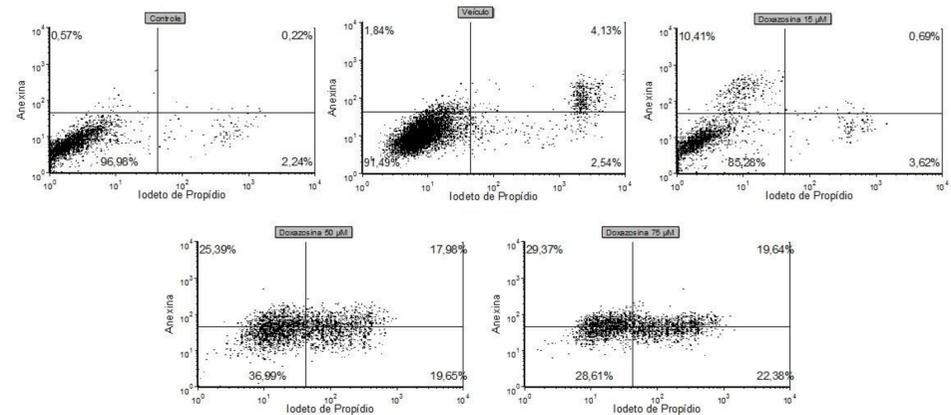


Figura 2. Doxazosina induz morte celular por apoptose na linhagem de gliomas U138. O quadrante superior esquerdo é a percentagem de apoptose e o quadrante inferior esquerdo mostra as células viáveis. O quadrante inferior direito mostra morte por necrose e o superior direito apoptose tardia.

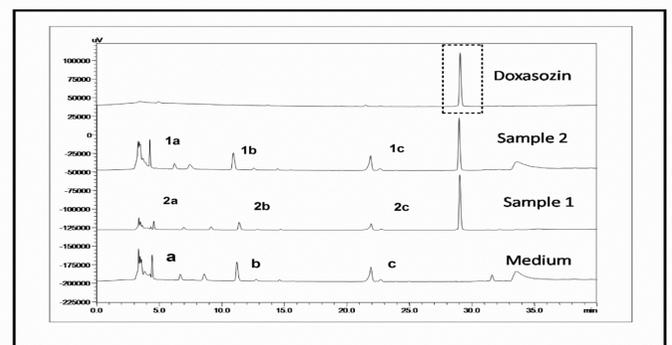


Figura 3. Análise cromatográfica da doxazosina incubada com meio DMEM 10% SFB (Sample 2). (2a) Picos característicos dos fatores de crescimento presentes no meio. (2b, 2c) Picos característicos da gamicina e fungizona presentes no meio.

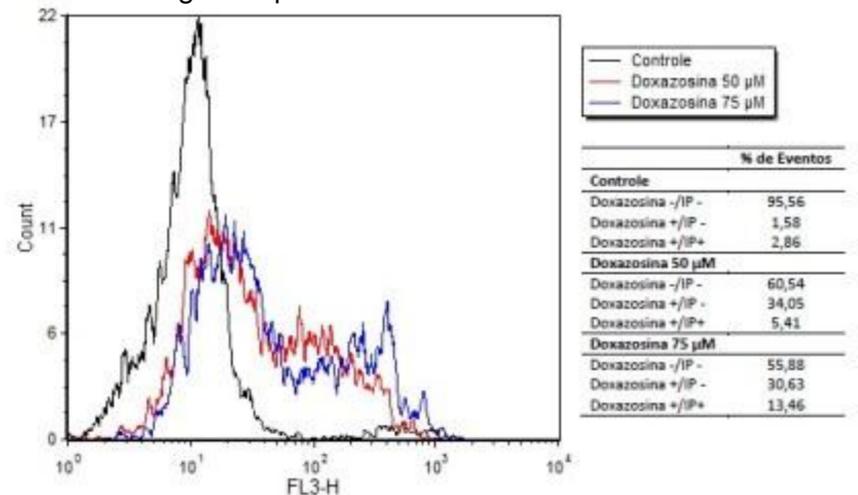


Figura 4. A doxazosina captada pelas células pode ser quantificada por citometria de fluxo devido à sua autofluorescência. Média + D.P., ANOVA seguido de Tukey.

CONCLUSÃO

Após 48h de tratamento, nas concentrações de 50 e 75 µM, a doxazosina foi capaz de aumentar significativamente a morte celular na linhagem de gliomas U138-MG. Também, nestas condições, foi capaz de induzir morte celular por apoptose e necrose. A citometria de fluxo demonstrou que a doxazosina é incorporada pelas células e a avaliação por HPLC demonstrou que a droga é estável no meio de cultivo após 48h de incubação e, portanto, seus efeitos não são atribuídos a seus produtos de degradação. Os resultados mostram que a doxazosina tem potencial antitumoral e poderia ser utilizada como coadjuvante na terapia já estabelecida.



MODALIDADE DE BOLSA

PROBIC FAPERGS-UFRGS

Apoio financeiro:

