

# **ATIVIDADE ANTITUMORAL DA PROMETAZINA: ESTUDO DE MECANISMOS MITOCONDRIAIS RELACIONADOS À CITOTOXICIDADE**

Karoline Kristina Kemmerich<sup>1</sup>; Rebeca Lobato Alves<sup>2</sup>; Antonio Carlos Ribeiro Filho<sup>3</sup>; Wagner Donizetti Santana Vital<sup>4</sup>; Edgar Julian Paredes-Gamero<sup>5</sup>; Tiago Rodrigues<sup>6</sup>

Estudante do Curso de Biomedicina; e-mail: kristinakemmerich@hotmail.com<sup>1</sup>

Estudante do Curso de Biomedicina; e-mail: rl.alves@hotmail.com<sup>2</sup>

Doutorando em Biotecnologia; e-mail: antoni\_biomed@hotmail.com<sup>3</sup>

Mestrando em Biotecnologia; e-mail: wagner.vital@hotmail.com<sup>4</sup>

Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: paredes.gamero@gmail.com<sup>5</sup>

Orientador do Programa de Biotecnologia da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: tiago.rodrigues@ufabc.edu.br<sup>6</sup>

Área do Conhecimento: Metabolismo e Bioenergética

Palavras-chave: prometazina, mitocôndria, citotoxicidade.

## **INTRODUÇÃO**

As fenotiazinas são fármacos pertencentes da classe de agentes antipsicóticos desenvolvidos em 1883. Inicialmente seu uso clínico era aplicado em casos antissépticos, anti-helmínticos e antimaláricos, no entanto descobriu-se outras aplicações. Atualmente esta sendo profusamente empregado no tratamento de esquizofrenia, no controle de distúrbios psicológicos, no tratamento de mania, ansiedade e agitação psicomotora. (LÓPEZ-MUÑOZ, 2005; LEHMANN & BAN, 1997). Publicações anteriores deste grupo comprovam que as ações das fenotiazinas são capazes de induzir a transição de permeabilidade mitocondrial, estando assim relacionada à liberação de citocromo c pelas mitocôndrias, evento o qual mostra o disparo de apoptose (CRUZ et al., 2010).

## **OBJETIVOS**

Este projeto teve como objetivo estudar o efeito da prometazina como possível indutor da transição de permeabilidade mitocondrial (TPM). Foram então utilizadas mitocôndrias isoladas de fígado de rato como modelo experimental, e os resultados obtidos auxiliarão na compreensão dos mecanismos de citotoxicidade exibidos por este composto.

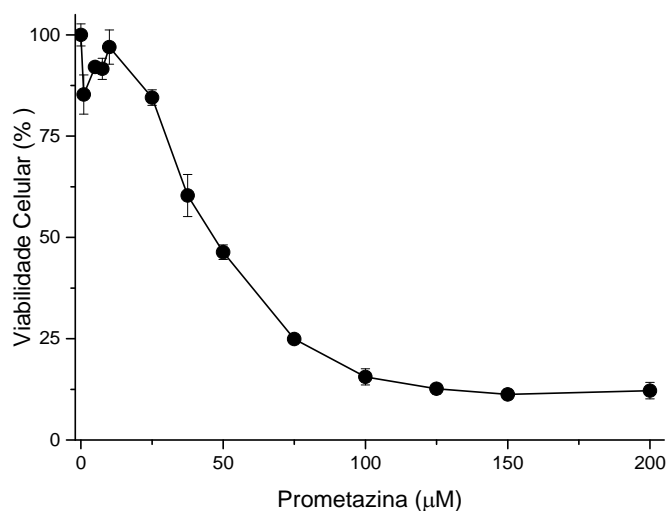
## **METODOLOGIA**

A solução estoque da prometazina foi preparada em água deionizada ultrapura. Ratos Wistar machos de até 200g foram sacrificados e o fígado alcançado por incisão na cavidade abdominal. Após sua remoção, o órgão foi cortado em pequenos fragmentos em meio de homogeneização contendo sacarose 250 mmol/L, EGTA 1 mmol/L, e HEPES-KOH 10 mmol/L, pH 7,4, a 4°C, lavados no mesmo meio e homogeneizado em Potter-Elvehjen (1 ciclo com 3 passagens do pistilo) e sua suspensão obtido através de centrifugações e quantificada por proteínas através do método de Biureto (CAIN & SKILLETER, 1987). O potencial de membrana foi avaliado espectrofotometricamente usando os comprimentos de onda de 505 e 535 nm, excitação e emissão, respectivamente. As células leucêmicas K562 foram cultivadas em meio RPMI 1640 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), suplementado com 10% de soro bovino fetal

(Gibco), penicilina 100 UI/mL e estreptomicina 100 µg/mL, mantidas em estufa com 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C. Os repiques realizados a cada 72 horas e a viabilidade celular determinada utilizando o corante de exclusão azul de tripan conforme descrito no item 3.3. (AMERICAN TYPE CULTURE COLLECTION, 2009).

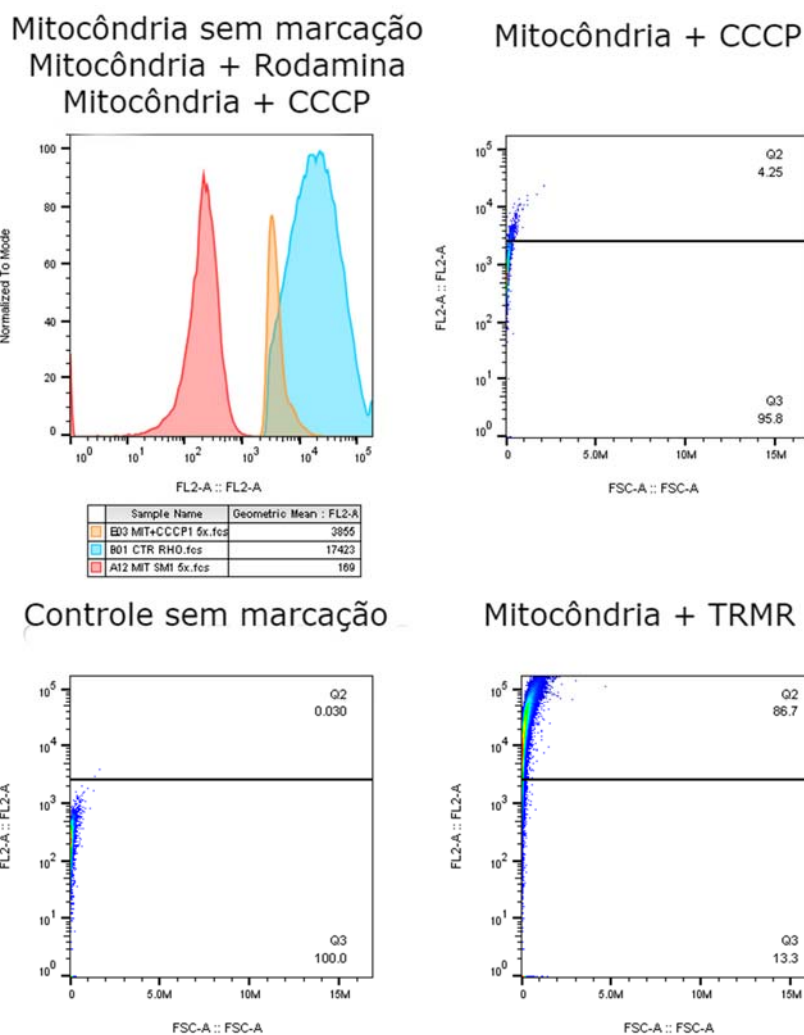
## RESULTADOS/DISCUSSÃO

Avaliando a viabilidade celular da K562 em conjunto da prometazina e utilização do método de redução de MTT, observou-se após a incubação de 24 horas com a droga em diferentes concentrações (1; 5; 7,5; 10; 25; 37,5; 50; 75; 100; 125; 150 e 200 µM). A prometazina interferiu na viabilidade celular causando diminuição de 50% a partir da concentração de 25 µM (Fig1).



**Figura 1. Citotoxicidade da prometazina em células leucêmicas K562.** Células K562 ( $1 \times 10^5$ /mL) foram incubadas por 24 horas a 37 °C em atmosfera de CO<sub>2</sub> 5% com diferentes concentrações de prometazina. A porcentagem de células viáveis foi calculada em relação ao controle, considerado como 100% feito na ausência da droga.

Como já descrito, inicialmente era pressuposto a abertura do poro de transição de permeabilidade mitocondrial. Através do ensaio de potencial de membrana, a prometazina submetida em conjunto da mitocôndria isolada demonstrou não ser capaz de dissipar este potencial (Fig. 2). Sendo assim constatado que diferente de outros derivados fenotiazínicos já estudados ela não é capaz de dissipar o potencial, portanto novos experimentos devem ser feitos para a constatação de tal resultado.



**Figura 2. Padronização da análise de mitocôndrias isoladas por citometria de fluxo**

As mitocôndrias foram isoladas em meio padrão, incubadas a 30° adicionada a rotenona (1 µmol/L), Ca<sub>2</sub> (10 µmol/L), rodamina, (2 µmol/L) e succinato de potássio (20mmol/L) em diferentes momentos de adição, e induzido o máximo de dissipação através da última adição com CCCP. (A figura representa 3 experimentos com diferentes preparações de mitocôndrias.)

## CONCLUSÕES

Aprometazina demonstrou não ser capaz de induzir a dissipação do potencial de membrana mitocondrial quando analisadas espectrofluorimetricamente. Diferentemente do princípio inicial que tinha como suposição causar dissipação por ser um derivado fenotiazinico. Toda via foi capaz de causar diminuição na viabilidade de células leucêmicas K562, visto isto este resultado demonstra que a droga possui efeito citotóxico *in vitro* contra células tumorais, apresentando um potencial para utilização em terapias antitumorais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN TYPE CULTURE COLLECTION (ATCC). Catalog Search- product description, 2009, Disponível em: <http://www.atcc.org/ATCCAdvancedCatalogSearch>.

CRUZ, T.; FARIA, P. A.; SANTANA, D. P.; FERREIRA, J. C.; OLIVEIRA, V.; NASCIMENTO, O. R.; CERCHIARO, G.; CURTI, C.; NANTES, I. L.; RODRIGUES, T. On the mechanisms of phenothiazine induced mitochondrial permeability transition:

thiol oxidation, strict  $\text{Ca}^{2+}$  dependence, and cytc release. *Biochemical Pharmacology*, v. 80, n.8, p.1284-1295, 2010.

LÓPEZ-MUÑOZ, F.; ALAMO, C.; CUENCA, E.; SHEN, W.W.; CLERVOY P.; RUBIO, G. History of the discovery and clinical introduction of chlorpromazine. *Annals of Clinical Psychiatry*, v. 17, n. 3, p. 113-135, 2005.

LEHMANN, H.E.; BAN, T.A.The history of the psychopharmacology of schizophrenia.*Canadian Psychiatry Association*, v. 42, n. 2, p. 152-162, 1997.