

# AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO INIBIDOR MULTIQUINASE SORAFENIBE SOBRE AS CÉLULAS MUSCULARES LISAS ARTERIAIS DE *RATTUS NORVEGICUS*: ESTUDO IN VITRO

Gabriela Mendonça dos Reis  
Jessica Machado Miri  
Dra. Ivana Grivicich

PPG EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR APLICADA À SAÚDE ULBRA - CANOAS

## Introdução

As doenças cardiovasculares são, na atualidade, a principal causa de óbitos no mundo e a aterosclerose é a principal responsável. Dentre os tratamentos, a angioplastia se destaca, porém a reestenose persiste como um problema. Na busca de outras formas de tratamento, os stents farmacológicos que utilizam medicamentos antiproliferativos para atuarem localmente na parede vascular, tornaram-se uma opção. Entre os medicamentos utilizados nos stents farmacológicos, podemos citar o paclitaxel e, mais recentemente, os inibidores de multiquinases.

## Objetivos

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos citotóxicos e de migração celular do inibidor multiquinase sorafenibe em células musculares lisas arteriais de *Rattus norvegicus in vitro*.

## Material e Métodos

### Cultivo e manutenção das células

Foi utilizada a linhagem celular de músculo liso de aorta torácica de *Rattus norvegicus* A7r5, adquirida do RJC Collection (Rio de Janeiro, RJ, Brasil). As células foram mantidas em frascos de cultura de 25 cm<sup>2</sup> com meio de cultura Dulbecco's contendo 10% de soro fetal bovino (v/v), a 37 °C em atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> e umidade de no mínimo 95%.

### Avaliação da citotoxicidade

Para o ensaio, as células foram expostas ao sorafenibe e paclitaxel (controle positivo) em concentrações variando de 0 a 5 µM por 24 h e seu efeito citotóxico foi avaliado pelo ensaio colorimétrico de MTT e a leitura feita em um leitor de microplaca. A partir destes dados, foram obtidos os valores do IC<sub>50</sub>, isto é, a concentração do fármaco necessária para inibir 50% do crescimento celular. O efeito citotóxico será determinado conforme ISO 109293-5/2009, que normatiza testes de citotoxicidade *in vitro* para avaliação de compostos para uso na saúde. Desta forma, um composto é considerado citotóxico quando causar redução de 70% na viabilidade celular.

### Avaliação da migração celular

Para avaliação da migração celular, foi utilizado o teste de Scratch wound assay, as células foram plaqueadas e na monocamada foi feita uma lesão utilizando uma ponteira de 200 µL, e então foram tratadas com sorafenibe e paclitaxel nas concentrações variando de 0 a 5 µM. A migração celular foi analisada por fotografia após 0 h, 4 h, 8 h, 12 h e 24 h subsequentes à criação da lesão e o resultado da migração foi expresso em porcentagens.

## Resultados

Os resultados preliminares mostraram que o sorafenibe (IC<sub>50</sub> 3,0 ± 0,5 µM) (Tabela1) apresentou um efeito 1,6 vezes maior quando comparado com o paclitaxel (IC<sub>50</sub> 4,8 ± 0,5 µM).

**Tabela 1: Valores de IC<sub>50</sub> (µM; média ± DP, n = 6) na linhagem celular músculo liso de aorta torácica de *Rattus norvegicus* A7r5 após tratamento por 24 h com Paclitaxel ou Sorafenibe.**

	IC <sub>50</sub> (µM)
Paclitaxel	4,8 ± 0,5
Sorafenibe	3,0 ± 0,5*

\*Estatisticamente diferente do Paclitaxel (p < 0.05).

Ao avaliarmos a migração celular (Tabela2), observamos que tanto o sorafenibe quanto o paclitaxel inibiram a migração celular, sendo esse efeito mais pronunciado com o sorafenibe (2x).

**Tabela 2: Percentual de fechamento da superfície de ferimento *in vitro* na linhagem celular músculo liso de aorta torácica de *Rattus norvegicus* A7r5 após tratamento por 24 h com Paclitaxel ou Sorafenibe. Os resultados (média ± DP; n = 6) estão expressos em relação ao tempo 0 de tratamento.**

	Fechamento da Ferida (%)
Controle	30,3 ± 6,2
Paclitaxel	5,0 ± 0,9*
Sorafenibe	10,0 ± 7,0**

\* Estatisticamente diferente do Controle Negativo (p < 0.05). \*\* Estatisticamente diferente do paclitaxel (p < 0.05).

## Conclusões parciais

Assim, nossos resultados sugerem que o sorafenibe possui um maior potencial de uso na reestenose quando comparado com o paclitaxel.

## Referências bibliográficas

- Herrington W, Lacey B, Sherliker P, Armitage, J, Lewington S. *Epidemiology of Atherosclerosis and the Potential to Reduce the Global Burden of Atherothrombotic Disease*. [Circ Res](#) 2016 Feb;118(4):535-46.
- Bittl JA. Advances in coronary angioplasty. *N Engl J Med*. 1996 Oct;335(17): 1290-1302.
- Rossato JS. Bases moleculares da reestenose intra-stent e novas estratégias terapêuticas. Rio Grande do Sul. Tese [Doutorado em Ciências da Saúde, Área de Concentração: Cardiologia e Ciências Cardiovasculares] – Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2017.
- Yamaji K, Räber L, Zanchin T, Spitzer E, Zanchin C, Pilgrim T. Ten-year clinical outcomes of first-generation drug-eluting stents: the Sirolimus-Eluting vs. Paclitaxel-Eluting Stents for Coronary Revascularization (SIRTAX) VERY LATE trial. *Eur Heart J*. 2016 Dec;37(45):3386–3395.

APOIO:



gabireis58@gmail.com