

## **MK 571, um inibidor de proteína de resistência múltiplos fármacos potencializa as respostas relaxantes na bexiga e próstata de camundongos**

**Área:** Ciências Básicas

**Autores:** Bertolotto GM, de Oliveira MG, Antunes E, Mónica FZ

### **Resumo:**

A concentração intracelular dos segundos mensageiros GMPc e AMPc é controlada pela taxa de produção através da atividade das enzimas guanilato ciclase solúvel (GCs) e particulada ou pela adenilato ciclase (AC), respectivamente e pela depuração seja pela ação das fosfodiesterases seja pela atividade dos transportadores de efluxo. Os transportadores do subtipo MRP4 e MRP5 fazem parte de uma grande família de proteínas transmembrana que utilizam da energia da hidrólise do ATP para bombear diversos compostos endógenos e xenobióticos para fora da célula, e dentre esses compostos endógenos estão o AMPc e GMPc. Foi demonstrado a expressão do MPR5 no baixo trato urinário humano, como bexiga, corpo cavernoso e uretra e a expressão do MRP4 em células da próstata. Uma vez que os nucleotídeos cíclicos são importantes segundos mensageiros que controlam a reatividade dos órgãos do trato urogenital, este estudo objetiva caracterizar o efeito do inibidor de MRP não seletivo, MK 571 sobre as respostas relaxantes induzidas por agonistas que aumentam AMPc ou GMPc isolados bexiga e próstata de camundongos.

**Material e métodos:** Curvas de concentração-resposta para: 1) Isoprenaline (0.001-30  $\mu$ M), Fenoterol (0.001-30  $\mu$ M), Forscolin (0.01-100  $\mu$ M), em bexigas pré-contraídas com carbacol (1  $\mu$ M) e 1) nitroprussiato de sódio

(0,001-100  $\mu\text{M}$ ), Tadalafil (0.01-100 $\mu\text{M}$ ) 8Br-GMPc (0.01-100  $\mu\text{M}$  ) em isolado de próstata pré-contraídas com fenilefrina (1  $\mu\text{M}$ ) foram realizadas. Os níveis intracelulares de cAMP e cGMP na bexiga e próstata, respectivamente, também foram quantificados. Os valores de potência (pEC50) e resposta máxima (Emax) foram determinados enquanto os níveis de cAMP e cGMP foram expressos em pmol / mL. A expressão das proteínas p-VASPSer157/p-VASPTotal na bexiga e p-VASPSer239/p-VASPTotal na próstata foram detectados pela técnica de Western Blotting. Os dados são expressos como média  $\pm$  SEM, N = número de animais.

**Nossos resultados** preliminares mostraram que em bexiga de camundongo, o isoproterenol, o fenoterol e a forskolina produziram relaxamento dependentes da concentração, e essas respostas foram significativamente potenciadas em 36, 37 e 24% na presença de MK 571 (20  $\mu\text{M}$ ). O tratamento com fenoterol gerou um aumento de cinco vezes nas concentrações de AMPc na bexiga em comparação com os níveis basais e quando o MK 571 foi pré-incubado, o aumento foi de 60% nos níveis de AMPc quando comparado com fenoterol sozinho, já com a forskolin o aumento de AMPc foi de 6 vezes quando comparado com o basal e quando o MK 571 foi pré-incubado o aumento foi de 92% quando comparado com forskolin sozinho. Ao avaliarmos a fosforilação da VASP no resíduo de serina 157, a adição do MK571 sozinho não aumentou os níveis de p-VASP Ser-157. Entretanto quando o MK571 foi incubado com fenoterol observamos um aumento significativo de 84% na expressão proteica da p-VASP Ser-157 quando comparado apenas com o fenoterol. Já na próstata, o relaxamento induzido pelo doador de óxido nítrico, SNP foi significativamente aumentado pelo MK 571 em 70% com, com tadalafil o relaxamento foi potenciado em 93% e com 8Br-GMPc o aumento com o

MK 571 foi de 56. O tratamento com SNP gerou um aumento de quatro vezes nas concentrações de GMPc na próstata em comparação com os níveis basais e quando o MK 571 foi pré-incubado, o aumento foi de quatro vezes nos níveis de GMPc quando comparado com SNP sozinho, já com o tadalafil o aumento de GMPc foi de 44% vezes quando comparado com o basal e quando o MK 571 foi pré-incubado o aumento foi de 135% quando comparado com tadalafil sozinho. Ao avaliarmos a fosforilação da VASP no resíduo de serina 239, a adição do MK571 sozinho não aumentou os níveis de p-VASP Ser-239. Entretanto quando o MK571 foi incubado com SNP observamos um aumento de 2 vezes na expressão proteica da p-VASP Ser-239 quando comparado apenas com o SNP.

Assim, podemos **concluir** que a inibição de MRPs, quando associada a agonistas que aumentam os níveis de nucleótidos cíclicos, relaxa fortemente e relaxa a próstata. Esses achados são de interesse terapêutico porque destacam a importância do transportador de MRP no controle dos níveis de cAMP ou cGMP nos órgãos do trato urogenital.