

Título: Desenvolvimento de Lipossomas Carreadores de RNA de Interferência como Alternativa para Tratamento de Tumores de Mama

Autora: Alice Sampaio Barreto da Rocha

RESUMO

O câncer de mama apresenta o maior índice de incidência e mortalidade em mulheres no mundo. Levando em consideração os efeitos adversos dos tratamentos atuais, torna-se necessário minimizar esses danos ao paciente e aumentar a especificidade do tratamento. Este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de lipossomas catiônicos carreadores de moléculas de RNA de interferência (RNAi) para silenciamento de genes-alvo em tumores de mama. Para o desenvolvimento dos lipossomas definida a metodologia de hidratação do filme lipídico seguida da metodologia de extrusão. Os lipossomas passaram por caracterização físico-química sendo submetidos às técnicas de espalhamento de luz dinâmico (DLS), potencial zeta e microscopia eletrônica de transmissão. Realizou-se também testes de estabilidade: 1) A longo prazo, com amostras submetidas a armazenamento a 4°C e 25°C por dois meses. 2) Resistência a centrifugação e 3) Congelamento a -18°C e descongelamento. Além disso, para avaliar o efeito dos lipossomas vazios em linhagens celulares procedeu-se com o teste de proliferação celular em linhagem tumoral MCF-7 (adenocarcinoma humano de mama, Luminal A) e teste de viabilidade celular pelo ensaio de MTT com as linhagens MDA-MB-231 (adenocarcinoma humano de mama, triplo negativo) e MCF-10A (célula epitelial de mama humana não-tumoral). Após caracterizações e testes de estabilidade da formulação, passou-se a encapsular o RNAi utilizando a formulação de lipossomas catiônicos. Para avaliação da eficiência de encapsulação, utilizou-se a abordagem de ultrafiltração: onde houve separação entre o RNAi livre e o encapsulado para posterior dosagem de ambas as amostras por absorvância a 260 nm. Os resultados indicam lipossomas de aproximadamente 100 nm, índice de polidispersão de 0,14 e potencial zeta de 60 mV dentro dos parâmetros estabelecidos na literatura. Os lipossomas catiônicos desenvolvidos nesse trabalho se mostraram estáveis por 2 meses sob armazenamento a 4°C e resistentes a centrifugações. Os bioensaios não indicam alteração de proliferação nem de viabilidade celular após o tratamento com lipossomas vazios. A eficiência de encapsulamento dos lipossomas catiônicos apresentou média de 85%. Além disso, resultados preliminares de citometria de fluxo indicaram que houve uma redução na expressão do primeiro alvo testado após o tratamento com os lipossomas catiônicos carreadores de RNAi. Como perspectiva, serão realizados novos ensaios para avaliar o silenciamento dos demais alvos, além de avaliação *in vivo*, possibilitando o desenvolvimento de uma terapia inovadora no tratamento do câncer de mama.