

BIO.02 - Desenvolvimento de metodologia de obtenção e caracterização de lipossomas para uso em tratamento alternativo de tumores de mama

Alice Sampaio Barreto da Rocha^{1*}; Helvécio Vinícius Antunes²; Beatriz Ferreira de Carvalho Patricio²; Livia Deris Prado²; Katty Gyselle de Holanda e Silva³; Tatiana Martins Tilli⁴; Ana Paula Dinis Ano Bom¹.

1Fiocruz/Bio-Manguinhos;

2Fiocruz/Farmanguinhos;

3UFRJ - Universidade Federal do Rio de Janeiro;

4Fiocruz/CDTS.

Introdução:

O câncer de mama apresenta o maior índice de incidência e mortalidade no mundo. Levando-se em consideração a ineficácia e falta de seletividade dos tratamentos atuais, que ocasionam muitos efeitos colaterais, existe uma necessidade de minimizar danos ao paciente e aumentar a especificidade para as células tumorais da mama. Neste contexto, o nosso grupo de pesquisa aposta no desenvolvimento de lipossomas capazes de carrear RNA de interferência (RNAi) para silenciamento de genes-alvo. Assim é possível (1) caracterizar uma nova abordagem terapêutica, (2) aumentar a especificidade de entrega e (3) ação. No entanto, devido à sua instabilidade na corrente sanguínea se faz necessário o encapsulamento desta molécula. Dentre os carreadores de RNAi, os lipossomas têm se destacado devido à biocompatibilidade e possibilidade de alteração das propriedades da superfície lipossomal como adição da carga superficial, peguilação e inclusão/modificação de ligante para aumento de eficiência e especificidade de entrega da carga terapêutica no tecido-alvo.

Objetivo:

Obter e caracterizar lipossomas visando o uso como carreadores de RNAi para a entrega em células tumorais de mama.

Metodologia:

Os lipossomas foram preparados pelo método de hidratação do filme lipídico. Os lipídios utilizados foram a fosfatidilcolina (L- α -fosfatidilcolina 95%) e colesterol. A solução foi preparada com a mistura lipídica em clorofórmio e

metanol na proporção 3:1 na proporção molar de 8:3. O solvente orgânico da mistura foi evaporado em rotaevaporador IKA RV8 por 30 minutos (40 °C, 80 rpm). O filme lipídico formado foi hidratado com solução tampão PBS 1x pH 7,2 e submetido à sonicação por um minuto no processador ultrassônico (QSonica®). Posteriormente, as amostras foram filtradas em filtro de poro 0,22 μ m (Millex®) e armazenadas a 4 °C. A determinação do tamanho e o índice de polidispersão (PDI) dos lipossomas foi realizada empregando-se a técnica de espalhamento de luz dinâmico (DLS - *Dynamic Light Scattering*) no equipamento Nano-Zetasizer ZS (*Malvern Instruments*®). Alíquotas de 1,0 mL de cada amostra em triplicata foram analisadas para a obtenção do tamanho médio dos lipossomas, totalizando 30 leituras de tamanho de 10 experimentos.

Resultado:

Foram obtidas preparações lipossomais uniformes com parâmetros compatíveis a vesículas unilamelares pequenas (SUVs). As análises indicaram que o valor de tamanho de partículas e PDI médios são de respectivamente; 151,9 nm e 0,2890. Para avaliar a estabilidade dos lipossomas após estocagem a 4°C, foram realizadas medidas de DLS e PDI após uma semana. Os nossos resultados indicaram a manutenção dos valores médios de tamanho e PDI indicando que o lipossoma se manteve estável após armazenamento por até 1 semana.

Conclusão:

Os resultados preliminares do desenvolvimento da metodologia para obtenção de lipossomas indicam que as formulações se mostraram dentro do padrão esperado de tamanho e PDI possibilitando o uso desse sistema como carreador de RNAi para tratamento do câncer.

Palavras-chave: Câncer de mama; Lipossomas; RNA de interferência