



FORMULAÇÕES DE BASE NANOTECNOLÓGICA PARA O TRATAMENTO DE MELANOMA

JUNIOR, Alexandre Hoppen¹, GELSLEICHTER, Nicolly Espindola², AZAMBUJA, Juliana H.², MICHELS, Luana R.³, BRAGANHOL, Elizandra².

¹ Curso de Graduação em Farmácia, Departamento de Ciências Básicas da Saúde, Porto Alegre, UFCSPA

² Programa de Pós-Graduação em Biociências, Porto Alegre, UFCSPA

³ Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, UFRGS

*Autor correspondente: nicolly@ufcspa.edu.br

Introdução: Dentre os cânceres, o câncer de pele é o tipo mais comum, representando 30% dos tumores malignos no Brasil. O melanoma, forma mais agressiva do câncer de pele, é capaz de formar metástases, principalmente no pulmão e no cérebro. Tratamentos disponíveis, tais como o agente quimioterápico temozolamida (TMZ), apresentam baixa eficácia. A ecto-5'-nucleotidase (CD73) é uma enzima encontrada em células normais do organismo, porém a superexpressão, tida em diversos tumores incluindo o melanoma, é correlacionado a fenótipos mais invasivos e pior sobrevida, sugerindo que seja um possível alvo para tratamento do melanoma metastático.

Objetivo: Desenvolver e investigar potencial antiproliferativo de nanoemulsões com revestimento de quitosana contendo RNA de interferência (siRNA-CD73) para tratamento do melanoma metastático através da avaliação do silenciamento da CD73.

Métodos: As nanoemulsões foram preparadas pela técnica de emulsificação espontânea e complexadas em diferentes proporções (1:1, 2:1 e 4:1) entre siRNA CD73 e NB-Q para obtenção do complexo NB-Q:siRNA. Após, foram caracterizadas quanto ao pH e demais análises executadas no Zetasizer (Malvern®). A sequência de RNA para o siRNA-CD73 foram desenhadas e avaliadas pelo BLAST (NCBI). A viabilidade celular foi feita mediante ensaio de MTT em linhagem A375 (melanoma humano) e a análise da expressão da CD73 determinada por citometria de fluxo. A eficiência da formulação foi avaliada pela medida da atividade AMPásica em cultura de células A375 expostas ao APCP (inibidor farmacológico da CD73) em diferentes

concentrações ou submetidas ao protocolo de silenciamento *in vitro*. Após, a hidrólise do AMP foi determinada mediante método verde de Malaquita. Os resultados foram comparados com grupo controle.

Resultados: As formulações demonstraram características desejáveis para complexação do RNA e administração nasal. Cerca de 70% das células A375 expressam CD73, podendo servir de modelo para estudo da CD73. Nesse sentido, observou-se resposta concentração-dependente na diminuição da atividade de CD73 nas células expostas ao APCP. Limitações da cultura 2D utilizada podem explicar a redução da viabilidade tanto com a NB-Q quanto com a siRNA-CD73. A formulação, quando comparada ao controle, foi capaz de aumentar a atividade e expressão da CD73, de maneira oposta à esperada.

Conclusão: O presente estudo visou avaliar novas alternativas para o tratamento do melanoma. A CD73 por contribuir com a imunossupressão no MAT é um alvo terapêutico promissor. A formulação contendo siRNA para CD73 não foi capaz de silenciar a atividade e expressão da CD73 *in vitro*. Apesar das limitações do modelo *in vitro*, observou-se resultados promissores em testes pré-clínicos em nanoemulsões com revestimento de quitosana contendo TMZ. No entanto, mais estudos são necessários para melhor avaliação do perfil de segurança e eficácia.

Palavras-chave: melanoma, nanoemulsão, temozolamida, CD73, siRNA