



| | |
|-------------------|---|
| Evento | Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS |
| Ano | 2014 |
| Local | Porto Alegre |
| Título | Nanoemulsões catiônicas PEGuiladas: um sistema de transferência gênica para o modelo murino de Mucopolissacaridose tipo I |
| Autor | DIRNETE DA SILVA DIEL |
| Orientador | HELDER FERREIRA TEIXEIRA |

Introdução: A mucopolissacaridose tipo I (MPS I) é uma doença causada pela deficiência da enzima alfa-L-iduronidase (IDUA), a qual é responsável pela degradação de glicosaminoglicanos nos lisossomos. O acúmulo destes ocasiona diversas manifestações clínicas. Atualmente uma das abordagens terapêuticas proposta para o tratamento da MPS I é a utilização de sistemas lipídicos, como vetores gênicos, e dentre eles destacam-se as nanoemulsões catiônicas. Objetivo: O presente trabalho visou avaliar a aplicação de nanoemulsões catiônicas contendo o plasmídeo pIDUA, o qual contém o gene que codifica para enzima IDUA, como um sistema de transferência gênica para o modelo murino de MPS I. Metodologia: As nanoemulsões catiônicas constituídas de um núcleo oleoso de triglicerídeos de cadeia média, estabilizadas por uma mistura do lipídeo catiônico 1,2-dioleoil-3-trimetil amônio propano, fosfolipídeos dioleilfosfatidiletanolamina (NE) e diestearilfosfatidiletanolamina-polietilenoglicol (DSPE-PEG) (NEP) foram obtidas pelo procedimento de homogeneização à alta pressão. As formulações foram obtidas pela adsorção do plasmídeo às formulações. O diâmetro médio e o potencial zeta das formulações foram determinados por espectroscopia de correlação de fótons e mobilidade eletroforética, respectivamente. A complexação do pIDUA com as nanoemulsões foi analisada por meio do ensaio de retenção em gel de agarose, sendo o resultado verificado utilizando transiluminador de UV. A verificação da estabilidade foi realizada através da incubação dos complexos com a enzima DNase I. A liberação do pIDUA dos complexos foi avaliada após incubação em meio de cultura na presença e na ausência de soro. Os complexos foram administrados intravenosamente na veia da cauda de camundongos nocaute MPS I aplicando-se 30 µg de pIDUA. Os animais foram sacrificados após 48h da injeção, foram retirados o fígado, os rins, o baço e os pulmões e foi avaliada a eficiência da transfecção através da dosagem da atividade enzimática por ensaio fluorimétrico e a avaliação da expressão gênica através da técnica de PCR quantitativo em tempo real. Resultados: A complexação do pIDUA tende a aumentar o diâmetro e diminuir o potencial zeta das formulações. Os complexos apresentaram um diâmetro médio de 262 nm e um potencial zeta de +3,3 e -6,1 mV, respectivamente. A complexação total do pIDUA com as formulações foi observado a partir da relação de cargas +2/-. Nesta mesma condição foi possível verificar a proteção do pIDUA da digestão pela enzima DNase I. As propriedades físico-químicas e a estabilidade dos complexos na presença de proteínas do soro foram influenciadas principalmente pela presença de DSPE-PEG. Após o tratamento intravenoso dos camundongos nocautes MPS I, observou-se que houve um aumento significativo na atividade e na expressão de IDUA em diferentes órgãos, especialmente nos pulmões. Conclusão: Estes resultados pré-clínicos demonstraram que nanoemulsões catiônicas PEGuiladas representam um potencial sistema terapêutico para o tratamento da MPS I.