

Avaliação do potencial antiproliferativo da formulação lipossomal contendo o flavonoide CS1640 e o monofosfoester 2-AEH2F em células de melanoma

Chammas SM²; Murilo Henrique^{1,2}; Giovannini LA²; Cabette RA²; Rabelo DC²; Maria DA².

¹ Universidade Nove de Julho, Departamento da Saúde III. Curso de Medicina, Capus Osasco, Brasil.

² Laboratório de Desenvolvimento e Inovação Industrial. Instituto Butantan, São Paulo, Brasil.

Órgãos de fomento :



q: 437845/2016-8 150190/2017-4



CAPES : 88887.357208/2019-00

Introdução

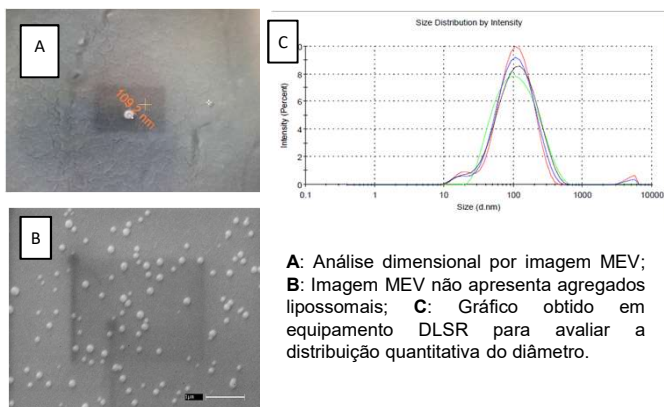
Lipossomas são estruturas vesiculares compostas por lipídios polares de caráter anfifílico, constituídos principalmente por fosfolipídios, agregados em uma ou mais bicamadas lipídicas que se organizam em um formato tipicamente esférico. Por sua natureza, os lipossomas podem reter compostos hidrofílicos, solubilizados na fase aquosa, e compostos de caráter mais lipofílico. Assim a associação de drogas com caráter anfifílico é uma estratégia para o carregamento de compostos a sítios específicos. Neste estudo foram produzidas formulações lipossomais contendo o flavonoide CS1640 em associação ao monofosfoester 2-AEH2F, como estrutura de entrega ou drug delivery.

Casuística e Métodos

Os efeitos antiproliferativos do extrato flavonoide CS1640, em formulação lipossomal contendo o carreador monofosfoester 2-AEH₂F foram realizados em células tumorais e normais, melanoma e fibroblastos. As formulações lipossomais foram obtidas a partir do dioctadecyldimethylammoniumchloride (DODAC) para incorporação do composto CS1640 e do 2-AEH₂F. A determinação do tamanho das vesículas foi realizada empregando a técnica de espalhamento de luz em equipamento Zeta Sizer Nano e a carga elétrica em DLS. Para a determinação da viabilidade celular e os valores da IC₅₀% após o tratamento, foram utilizados testes colorimétricos de MTT. Análises morfológicas através de colorações histoquímicas, microscopia eletrônica de varredura e de transmissão foram realizadas para avaliação do potencial tóxico e apoptótico da formulação.

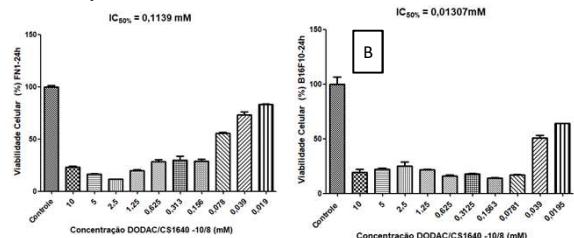
Resultados

1 - Caracterização dos lipossomas

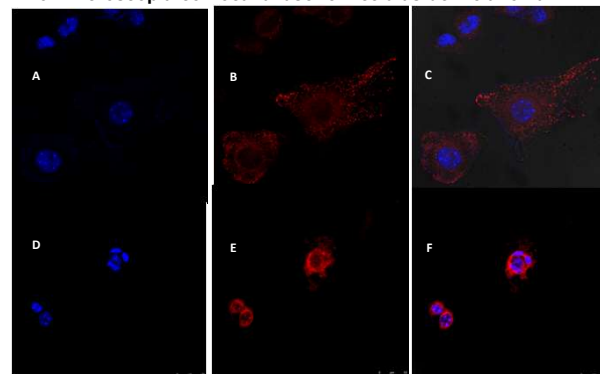


Resultados

2 - Ensaio para avaliar a viabilidade celular MTT

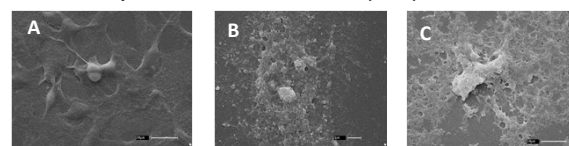


3 - Microscopia confocal a laser em células de melanoma



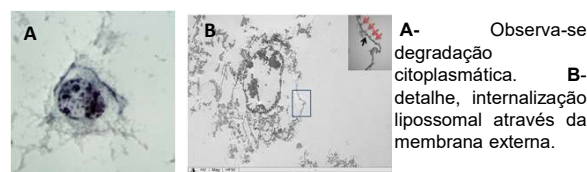
Microscopia confocal a laser em células de melanoma com marcação MitoRed para mitocôndrias. A, B e C: Controle. D, E e F: tratamento lipossomal na concentração de 10 mM. No grupo controle observa-se condensação normal (azul); Mitocôndrias distribuídas homogeneamente no citoplasma (vermelho). D: cromatina condensada anormalmente (azul); E: mitocôndrias sem marcação definida, provável ruptura da membrana plasmática.

4 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV)



Microscopia eletrônica de varredura em células de melanoma. A: Controle; B: lipossomas aderidos na superfície celular; C: Célula com alteração morfológica citoplasmática.

5 - Coloração Papanicolau e Microscopia eletrônica de Transmissão



Conclusões

A imagem obtida por microscopia eletrônica de varredura, demonstrou que a formulação lipossomal não apresentou agregados, observando-se dispersão homogênea. A análise por DLSR, demonstrou uma qualidade dimensional satisfatória, estável produzindo a dispersão de 100,6 nm e o percentual da polidispersão em média de 53,4 nm. No estudo de viabilidade celular, na linhagem de fibroblasto normal, quando comparada com linhagem de melanoma, foi observada diferença significativa, assim nos fibroblastos normais o valor de IC₅₀% foi de 0,1139 mM e em células de melanoma o valor de IC₅₀% de 0,0137 mM. Nas análises ultraestruturais e citológicas obtidas por diferentes técnicas, foram observadas alterações na constituição citoplasmática e fotomicrografia por microscopia eletrônica de transmissão detectadas núcleos condensados, picnóticos, corpos apoptóticos e estruturas típicas de morte celular por apoptose. Na atual fase do presente trabalho estamos avaliando a especificidade e seletividade de reconhecimento dos lipossomas pela membrana celular, sua internalização, liberação e degradação, uma vez que no futuro sua associação farmacológica poderá trazer informações sobre seu potencial sinérgico, para o tratamento de melanoma ou outros tipos de neoplasia.

Contato