

2 CETUXIMAB COMO POTENCIAL FERRAMENTA TERAPÊUTICA DE ENTREGA ESPECÍFICA DE MICRORNAS EM CÉLULAS DE CANCRO DO CÓLON

Simões AES1,, Santos ACC1,, Gomes SE1,, Pereira DM1,, Gonçalves J1,, Rodrigues CMP1,, Borrvalho PM1, ,

A emergente descoberta da desregulação dos níveis de múltiplos microRNAs no cancro e, em particular, no cancro do cólon (CC), tem demonstrado o potencial da sua aplicação na terapêutica. Neste estudo pretendemos desenvolver uma ferramenta terapêutica utilizando o Cetuximab como agente de entrega e direccionamento específico de microRNAs para células de CC. Para tal, o Cetuximab foi marcado com o fluoróforo FITC e, de seguida, conjugado com um anticorpo *single-chain* anti- FITC em fusão com protamina (anti-FITC-protamina). Finalmente, a protamina, que apresenta elevada afinidade para ácidos nucleicos, foi carregada com microRNAs. A capacidade de direccionamento do complexo terapêutico para células de CC foi testada *in vitro*. Após marcação do Cetuximab com FITC, observámos, por imunofluorescência e citometria de fluxo, que o Cetuximab-FITC mantém especificidade de ligação a células que expressam EGFR (HCT116), sem se ligar a células que não expressam EGFR (SW620) ($p < 0,05$). De seguida, confirmámos, por ELISA, a especificidade de ligação de anti-FITC-protamina ao Cetuximab-FITC ($p < 0,01$). Subsequentemente, demonstrámos, por *western blot*, que o anti-FITC-protamina é direccionado de forma eficaz para células de CC, apenas quando conjugado com o Cetuximab-FITC. Mais ainda, verificámos, por citometria de fluxo e PCR em tempo real, que o complexo terapêutico Cetuximab-FITC:anti-FITC-protamina:microRNA é capaz de entregar microRNAs em células de CC, tendo-se detectado um aumento dos níveis de microRNA entregue nas células alvo ($p < 0,05$). A grande vantagem do desenvolvimento desta ferramenta terapêutica advém da possibilidade de combinar o efeito terapêutico do Cetuximab, já em uso no tratamento do CC, com RNAs de interferência. Os resultados obtidos até agora demonstram a possibilidade de desenvolvimento de uma estratégia nova e eficaz para a aplicação potencial de microRNAs na terapêutica, aumentando futuramente as opções terapêuticas para o tratamento do CC.

SPG e FCT (PTDC/SAU-ORG/119842/2010, SFRH/BD/79356/2011).

1Instituto de Investigação do Medicamento (iMed.Ulisboa), Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, Lisbon, Portugal