

INJEÇÃO INTRATUMORAL DE PLASMÍDEO shRNA ANTI-PKR INIBE CRESCIMENTO DE MELANOMA *IN VIVO*

Nayara D. André^{1*}; Viviane A.S. Oliveira²; Fernando L. de Lucca²

¹ Laboratório de Genética Molecular, Universidade Federal de São João del Rei, Divinópolis/MG

² Departamento de Bioquímica e Imunologia, Faculdade de Medicina-USP, Ribeirão Preto/SP

*e-mail: nayara_fbq@yahoo.com.br

Resumo

A proteína quinase dependente de RNA (PKR) é uma serina treonina quinase ativada por autofosforilação mediada pela ativação de RNA. Inicialmente descrita na resposta antiviral, esta quinase tem sido implicada em importantes processos celulares como proliferação, diferenciação e apoptose. Tem sido sugerido que a PKR age como supressor de tumor, dado ainda controverso, uma vez que foi demonstrada elevada expressão e atividade em diversos tipos de neoplasias. Nos últimos anos, o RNA de interferência (RNAi) tem se tornado uma importante ferramenta para investigação da função gênica em células de mamíferos. Assim, o presente trabalho utilizou a tecnologia do RNAi no modelo de melanoma murino com o objetivo de investigar o papel da PKR sobre o crescimento das células B16-F10 e seu potencial como alvo terapêutico. Células B16-F10 foram transfectadas com o plasmídeo psiSTRIKE, o qual expressa o shRNA anti-PKR ou shRNA controle, na presença de Lipofectamina por 5h. O efeito do silenciamento foi analisado por PCR semi-quantitativo e *Western blot*. Cerca de 4×10^5 células transfectadas foram inoculadas via subcutânea em camundongos C57BL/6 e, após 14 dias, os camundongos foram sacrificados e o tumor removido e pesado. Células B16-F10 não transfectadas foram ainda inoculadas via subcutânea e, após 7 dias, administrada uma única dose de 2µg do shRNA anti-PKR ou controle, intratumoral, e o tumor avaliado após 7 dias. Nossos resultados demonstraram redução significativa da expressão do RNAm da PKR e da proteína após 48h de transfecção. A análise do peso tumoral indicou uma redução significativa de 86% no crescimento tumoral quando as células transfectadas foram inoculadas e de 70% após injeção intratumoral do shRNA. Portanto, nossos resultados não suportam o conceito de que a PKR atua como supressor de tumor e sugerem que a tecnologia do RNAi pode ser uma

abordagem promissora para tumores sólidos que apresentam elevada expressão desta quinase.

Palavras-chave: PKR, melanoma B16-F10, RNAi

Apoio financeiro: FAPESP e CAPES.