



**CURSO DE BACHARELADO EM BIOMEDICINA**

**DYESSICA KEROLAINE OLIVEIRA DE JESUS**

**TERAPIA GÊNICA POR RNAi PARA O TRATAMENTO  
DO CÂNCER**

Apucarana

2022

DYESSICA KEROLAINE OLIVEIRA DE JESUS

**TERAPIA GÊNICA POR RNAi PARA O TRATAMENTO  
DO CÂNCER**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Biomedicina da Faculdade de Apucarana – FAP, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Sara Mataroli de Godoy

Apucarana

2022

DYESSICA KEROLAINE OLIVEIRA DE JESUS

## **TERAPIA GÊNICA POR RNAi PARA O TRATAMENTO DO CÂNCER.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Biomedicina da Faculdade de Apucarana – FAP, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina, com nota final igual a \_\_\_\_\_, conferida pela Banca Examinadora formada pelos professores:

### **COMISSÃO EXAMINADORA**

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Sara Mataroli de Godoy  
Faculdade de Apucarana

---

Prof. Dr. Eduardo Augusto Ruas  
Faculdade de Apucarana

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Cássia Calixto de  
Campos  
Faculdade de Apucarana

Apucarana, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2022.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por todas as etapas, por estar presente em todas e por me ensinar e me ajudar a crescer a cada passo.

Agradeço a minha família pela paciência.

A minha orientadora por ter me ajudado, me ensinado e tido paciência comigo.

Aos professores pelo conhecimento que compartilharam.

*“Consagre ao Senhor tudo o que você faz  
e os seus planos serão bem sucedidos.”  
(Provérbios 16:3).*

JESUS, Dyessica Kerolaine Oliveira de. **Terapia gênica por RNAi para o tratamento do câncer**. 48 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Artigo). Graduação em Biomedicina da Faculdade de Apucarana – FAP. Apucarana-Pr. 2022.

## RESUMO

Os tumores malignos se originam devido às mutações que acometem os genes responsáveis pela síntese dos fatores de crescimento e de supressores tumorais, alterando o controle do ciclo celular e propiciando o crescimento desordenado de células em órgãos ou tecidos. Os tratamentos existentes para o câncer consistem em cirurgia, quimioterapia e radioterapia, porém, são estratégias com grandes efeitos colaterais, os quais debilitam consideravelmente os pacientes. Por essa razão, há grande interesse em pesquisas que busquem outros recursos terapêuticos. Um importante método consiste na terapia genética por RNAi, um dos tratamentos mais estudados na atualidade e que têm apresentado grande destaque. A terapia gênica por RNAi tem como objetivo silenciar o gene que se encontra instável, por meio da ligação dessa molécula ao mRNA alvo, o que impossibilita a síntese proteica. Uma vez que a proteína alterada não se forma, a manutenção do tumor se torna inviável. Por meio de revisão bibliográfica, realizada com base artigos científicos, o presente estudo teve por objetivo caracterizar o uso do RNA de interferência (RNAi) no tratamento do câncer, com ênfase especial nos mecanismos de entrega dessas moléculas no organismo do paciente. Com base nos dados levantados, foi possível observar a existência de estudos recentes evidenciando a efetividade no tratamento dessa patologia, os quais mostraram, ainda, certas limitações no processo de entrega dos RNAi, sendo necessário o desenvolvimento de mais pesquisas que possibilitem a implementação de tal terapia.

Palavra- chaves: Genes, Mutação gênica, Tumor.

JESUS, Dyessica Kerolaine Oliveira de. **RNAi gene therapy for cancer treatment.** 48 p. Completion of course work (Paper). Bachelor's Degree in Biomedicine. College of Apucarana – FAP. Apucarana-Pr. 2022.

### **ABSTRACT**

Malignant tumors originate due to mutations that affect the genes responsible for the synthesis of growth factors and tumor suppressors, altering the control of the cell cycle and providing the disordered growth of cells in organs or tissues. The existing treatments for cancer consist of surgery, chemotherapy and radiotherapy, however, they are strategies with major side effects, which considerably weaken patients. For this reason, there is great interest in research that seeks other therapeutic resources. An important method consists of RNAi gene therapy, one of the most studied treatments today and which has been highlighted. Gene therapy by RNAi aims to silence the gene that is unstable, by binding this molecule to the target mRNA, which makes protein synthesis impossible. Once the altered protein does not form, tumor maintenance becomes unfeasible. Through a literature review, based on scientific articles, the present study aimed to characterize the use of RNA interference (RNAi) in the treatment of cancer, with special emphasis on the delivery mechanisms of these molecules in the patient's body. Based on the data collected, it was possible to observe the existence of recent studies evidencing the effectiveness in the treatment of this pathology, which also showed certain limitations in the process of delivery of RNAi, requiring the development of more research to enable the implementation of such therapy.

Keywords: Genes, Gene Mutation, Tumor.

## LISTA DE ABREVIÇÕES

**RNA-** Ácido ribonucleico

**RNAi-** Ácido ribonucleico de interferência

**DNA-** Ácido desoxirribonucleico

**mRNA-** Ácido ribonucleico mensageiro

**ncRNA-** Ácido ribonucleico não codificante

**miRNA-** Micro ácido ribonucleico de interferência

**dsRNA-** *Double - stranded*

**siRNA-** *Short-interfering*

**pri- miRNA-** Micro ácido ribonucleico de interferência primário

**pre- miRNA-** Micro ácido ribonucleico de interferência precursor

**RISC-** Ribonuclease

**NIR-** Luz infravermelha próxima

**Hsp70B'-** Proteína de choque térmico 70B'

**CMV-** Citomegalovírus

**MCF-7-** Linha celular de câncer de mama humano

**DMP-** Micelas híbridas

**qPCR-** Real Time Quantitative PCR

**C26-** Células de câncer de cólon

**MTT-** (3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-di- fenil brometo de tetrazolina)



**PACT-** Quimioterapia fotoativada

**PROC-** Câncer de ovário resistente à platina

**ROCOP-** *Ring-opening copolymerization*

**ARC-** Plataforma anticorpo-siRNA conjugado

**GADS-** Gelatin- Antibody Delivery System

**GBM-** Glioblastoma

**TFRNAi-** Fatores de transcrição de ácido ribonucleico

**LPNPs-** Nanopartículas lipopoliméricas

**BTIC-** Células iniciadoras de tumores cerebrais

**PSP@MB-** Polietilenonimina

**OCSCs-** Células-tronco de câncer de ovário

**GSH-** Capacidade de resposta da glutatona

**lncRNA-** Ácido ribonucleico não codificante longo

**HCC-** Carcinoma Hepatocelular

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1- Ciclo celular</b>	<b>11</b>
<b>Figura 2- Fases da mitose</b>	<b>12</b>
<b>Figura 3 -Comportamento das células cancerígenas</b>	<b>13</b>
<b>Figura 4 - Processo de carcinogenesis</b>	<b>15</b>
<b>Figura 5- Mutação de hiperatividade e hipoatividade: formação de tumor</b>	<b>16</b>
<b>Figura 6- Biogênese de miRNA e siRNA</b>	<b>21</b>

## SUMÁRIO

<b>1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	<b>10</b>
<b>1.1 Mitose</b>	<b>10</b>
<b>1.2 Tumores</b>	<b>12</b>
<b>1.3 Desenvolvimento do câncer</b>	<b>14</b>
<b>1.3.1 Genes responsáveis pela carcinogênese</b>	<b>15</b>
<b>1.4 Ácidos nucleicos</b>	<b>16</b>
<b>1.4.1 DNA – Ácido Desoxirribonucleico</b>	<b>17</b>
<b>1.4.2 RNA- Ácido Ribonucleico</b>	<b>17</b>
<b>1.5 RNA de interferência</b>	<b>19</b>
<b>1.5.1 Biogênese dos miRNA e siRNAi</b>	<b>20</b>
<b>1.6 Entregas não viral e viral</b>	<b>22</b>
<b>2 REFERÊNCIAS</b>	<b>23</b>
<b>3 ANEXO A</b>	<b>26</b>
<b>RESUMO</b>	<b>26</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>26</b>
<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>27</b>
<b>METODOLOGIA</b>	<b>29</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>29</b>
<b>CONCLUSÃO</b>	<b>44</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>46</b>
<b>4 ANEXO B</b>	<b>48</b>

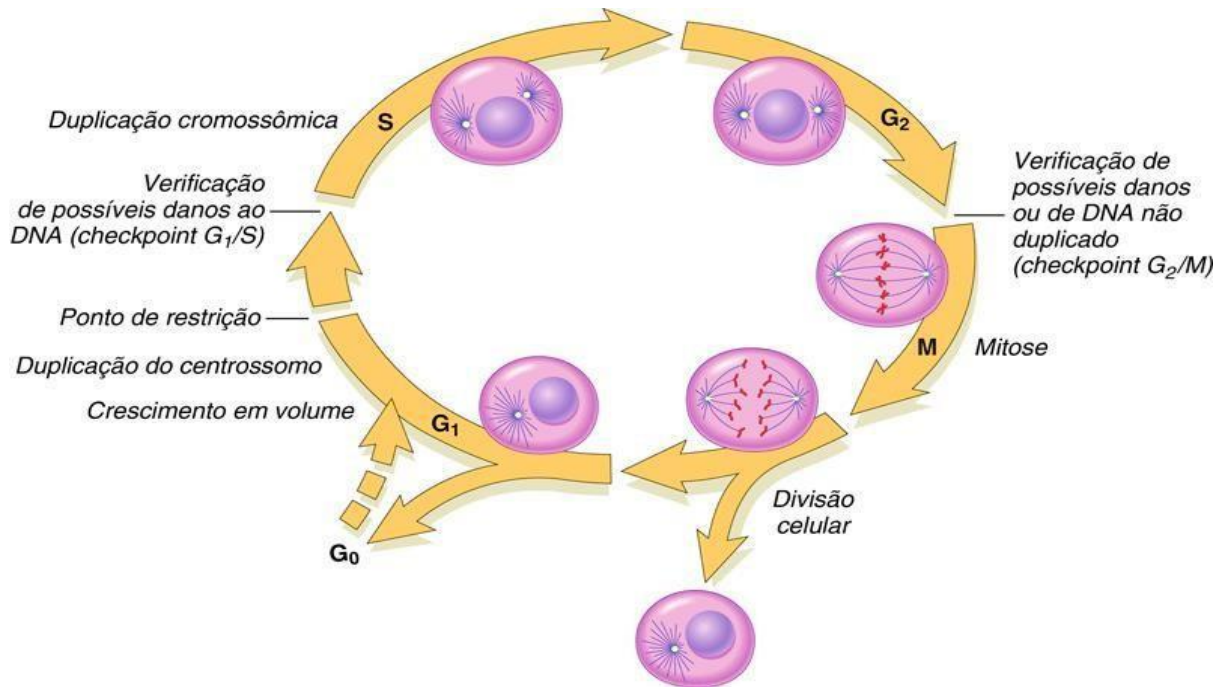
## 1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 1.1 Mitose

As células constituem as menores unidades funcionais da vida e, basicamente, são compostas por uma membrana celular, citoplasma e material genético (DNA – Ácido desoxirribonucleico). Células eucariotas apresentam inúmeras organelas membranosas, dispostas em seu citoplasma, capazes de executar variadas funções, e material genético contido num núcleo delimitado por membrana. É graças ao seu DNA, que as células transmitem todas as informações necessárias à manutenção da vida, por meio do processo de divisão celular, quando geram uma nova célula (ALBERTS, 2017).

Dois são os tipos básicos de divisão celular, mitose e meiose. Enquanto esse último é responsável pela formação de gametas, a mitose é a base para o desenvolvimento embrionário e crescimento, além de repor células mortas e cicatrizar lesões. Antes da célula iniciar a divisão propriamente dita, ela passa por várias fases do ciclo celular, onde cresce (fase G1), duplica seu material genético (fase S) e cresce novamente (fase G2) se preparando para a divisão (fase M) (Figura 1). Algumas células, entretanto, não passam pelo processo de divisão e, por essa razão, permanecem na chamada fase G0, onde executam suas funções normalmente. Tais fases pelas quais as células passam constituem o ciclo celular, o qual é rigidamente controlado para evitar o desequilíbrio entre proliferação e morte celular programada (apoptose) (UMAR; SASTRY; CHOUCANE, 2018).

**Figura 1 – Ciclo celular**

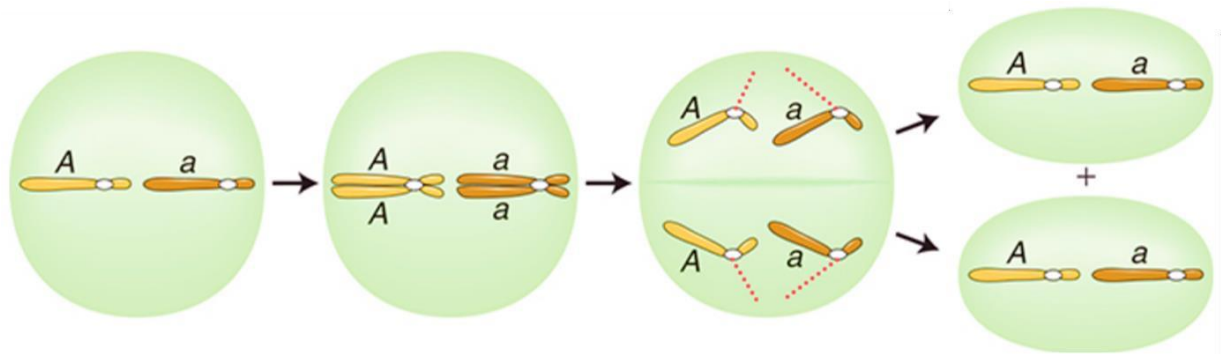


Fonte: Kumar et. al, 2018.

(G<sub>1</sub>) Ocorre a síntese de proteína e DNA. (S) O material genético que foi sintetizado é dividido (G<sub>2</sub>) Ocorre a síntese do fuso mitótico. (M) Se inicia a divisão celular.

O crescimento celular deve ser contínuo e equilibrado, de maneira que células danificadas ou velhas morram de forma programada, assim como novas células sejam formadas pela mitose, repondo as que foram perdidas. A mitose, por sua vez, é a divisão pela qual uma célula-mãe origina duas células-filhas idênticas geneticamente, e pode ser dividida em quatro fases: prófase, metáfase, anáfase e telófase (Figura 2). Os eventos inerentes a cada uma dessas fases são altamente controlados, pois, falhas nesse processo podem afetar integridade genômica celular, o que, por sua vez, favorece o surgimento de tumores (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017).

**Figura 2 – Fases da mitose**



Fonte: Griffiths et al. (2022).

## 1.2 Tumores

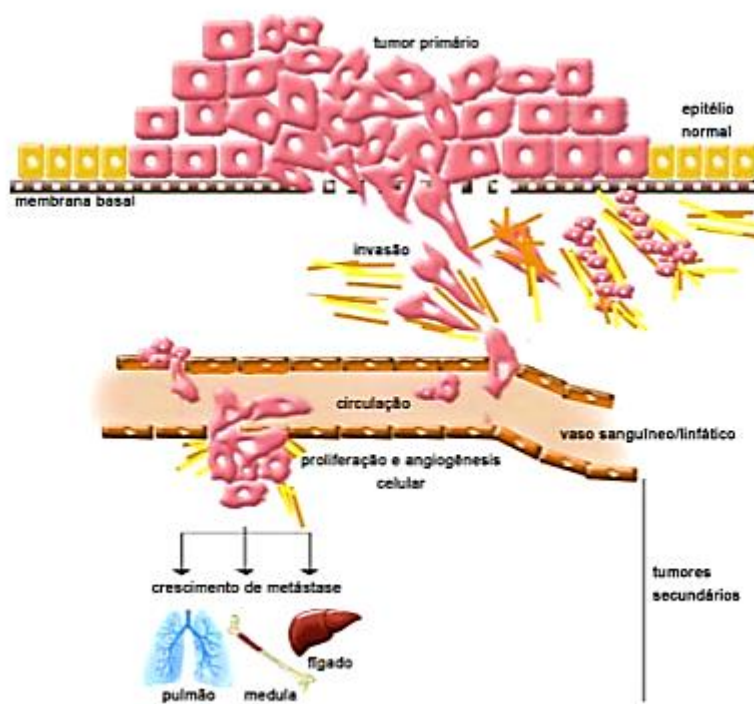
Há 3 mil anos antes de Cristo, egípcios já apresentavam a doença que hoje é a segunda que mais se desenvolve no mundo. O câncer vem do grego *Karkínos*, tendo sido nomeado por Hipócrates, pai da medicina, e significa caranguejo. Esse termo é utilizado para mais de 100 doenças que apresentam crescimento desordenado de células anormais e que invadem tecidos e órgãos adjacentes (INCA, 2011). Os gregos acreditavam que o corpo era composto por sangue, fleuma, bile amarela e bile negra, os quais, quando acumulados no corpo, causavam o câncer. A organização inicial da anatomia patológica por Giovanni Battista Morgagni contribuiu para que, no século XVIII, o câncer fosse uma doença considerada localizada em regiões específicas do corpo. Bichat, considerado o fundador da histologia, continuou com os estudos de Morgagni por meio do isomorfismo dos tecidos, o que possibilitou a compreensão de diferentes formas do câncer (MEDRADO, 2015).

Esse crescimento desordenado das células de um determinado órgão ou tecido forma o que conhecemos como tumores, os quais podem ser divididos em benignos e malignos. Os tumores benignos se constituem de células muito semelhantes às que o deram origem, se multiplicam respeitando uma delimitação e não possuem capacidade de migração para tecidos próximos, ou seja, não provocam metástases, sendo raros os casos em que pacientes vieram à óbito por esse tipo de tumor (OPPERMANN, 2014).

Já os tumores malignos são formados por células cuja organização interna está alterada, assim como seu DNA. Essas células cancerosas,

presentes em um determinado tecido, podem invadir tecidos adjacentes, alterando sua função. Podem, ainda, se desprender e se deslocar pelos vasos sanguíneos ou linfáticos, disseminando o câncer para diversas partes do corpo, num processo denominado metástase (Figura 3). Tal termo foi cunhado por Joseph Claude Anthelme Recamier quando observou a presença de um câncer no cérebro de uma paciente, cuja origem se deu por meio de células cancerosas anteriormente existentes em um tumor mamário (MEDRADO, 2015). Uma vez que as células cancerosas são menos especializadas e não possuem funcionalidade específica, os tecidos e órgãos, por elas afetados, vão perdendo sua funcionalidade (INCA, 2020).

**Figura 3 – Comportamento das células cancerígenas**



Fonte: PIACENTINI; MENEZES, 2012

As células que sofreram alteração são transportadas por outras partes através da corrente sanguínea ou linfática.

De maneira simplista, a teoria celular diz que toda célula deriva de outra, e que as células doentes têm como princípio as saudáveis, as quais passariam a apresentar uma alteração molecular, fazendo com que as células do entorno também sejam afetadas. Com base nisso, Rudolf Ludwig Karl Virchow propôs que o câncer teria origem a partir dos processos de divisão celular (NEUFELD, 2019).

### 1.3 Desenvolvimento do câncer

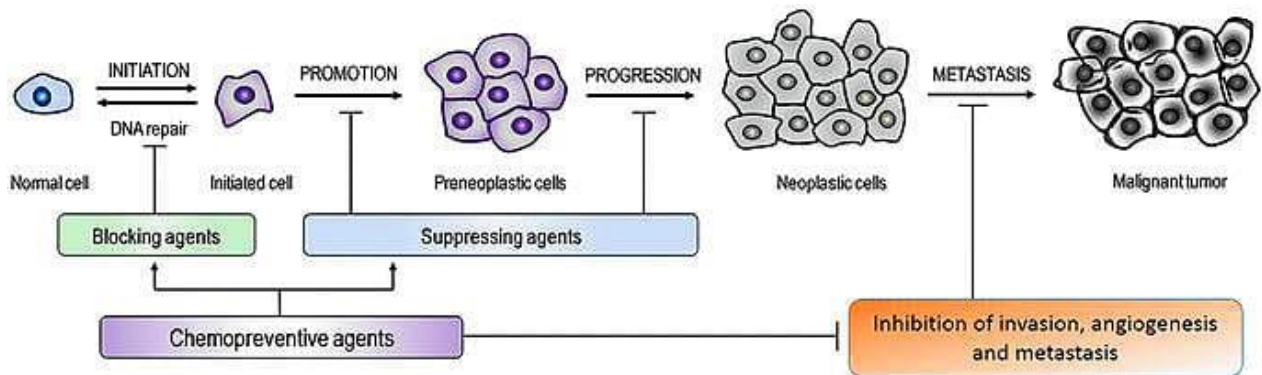
O processo de desenvolvimento do câncer, denominado carcinogênese ou oncogênese, é acumulativo e pode levar anos até que um tumor visível se forme e possa ser detectado, já que esse processo se dá pela mutação de genes da célula (INCA, 2021). As mutações que levam à formação dos vários tipos de câncer podem se originar a partir de diferentes agentes cancerígenos ou carcinogênicos, como subprodutos metabólicos celulares, compostos químicos exógenos, hormônios, radiações e infecções virais. De maneira geral, tais agentes alteram a sequência e funcionamento de genes de forma recorrente, culminando em falhas do controle do ciclo celular, o que altera o equilíbrio entre a apoptose e a proliferação celular, propiciando o desenvolvimento de tumores devido à divisão celular desenfreada (LODISH, 2005).

Para melhor entender o processo de desenvolvimento do câncer podemos dividi-lo em três etapas: iniciação, promoção e progressão (Figura 4). A iniciação corresponde ao estágio na qual a célula já apresenta algumas alterações nos genes, as quais foram causadas pelos agentes cancerígenos, porém ainda não é possível observar o tumor clinicamente. No estágio de promoção as células alteradas geneticamente passam a sofrer os efeitos dos agentes oncopromotores, que estimulam o surgimento de novas mutações genéticas. Durante o estágio de promoção a interrupção da exposição ao agente oncopromotor pode frear o processo de oncogênese. Já no estágio de progressão se dá pela multiplicação descontrolada e irreversível das células alteradas, de maneira que começam a surgir as primeiras manifestações clínicas (INCA, 2011).

Para que as células percam o controle do ciclo celular e haja o completo desenvolvimento do câncer, os genes afetados pelas mutações, entretanto, devem ser os proto-oncogenes e os genes supressores tumorais. Além disso, as falhas devem afetar os fatores de crescimento e seus receptores e, ainda, os fatores de transcrição nuclear (INCA, 2022).



**Figura 4 – Processo de carcinogênese**



Fonte: SIDDIQUI et al. (2015).

(A) iniciação é a alteração, mudança ou mutação de genes surgindo espontaneamente ou induzida pela exposição a um agente carcinogênico. (B) A promoção é considerada reversível no qual células pré-neoplásicas em proliferação ativa se acumulam. (C) A progressão é irreversível e ocorrem alterações genéticas e fenotípicas e proliferação celular.

### 1.3.1 Genes responsáveis pela carcinogênese

Os proto-oncogenes codificam os fatores de crescimento, responsáveis por sinalizar as células para que iniciem o processo de divisão celular. Entretanto, mutações nesses genes podem fazer com que os mesmos permaneçam constantemente ativos, culminando na proliferação celular contínua (Figura 5). Também o aumento na quantidade de receptores de membrana para os fatores de crescimento torna as células mais sensíveis aos estímulos externos, alterando o funcionamento das proteínas envolvidas nas transduções de sinais. Com tais alterações, após a transdução, os fatores de transcrição nuclear se ligam ao DNA, recrutando a enzima RNA Polimerase para que a transcrição gênica inicie o processo de síntese proteica. Com a superexpressão as células ficam mais propensas a falhas no mecanismo de reparo, produzindo proteínas alteradas, que iniciam o desenvolvimento neoplásico (BORGES-OSÓRIO; ROBINSON, 2013)

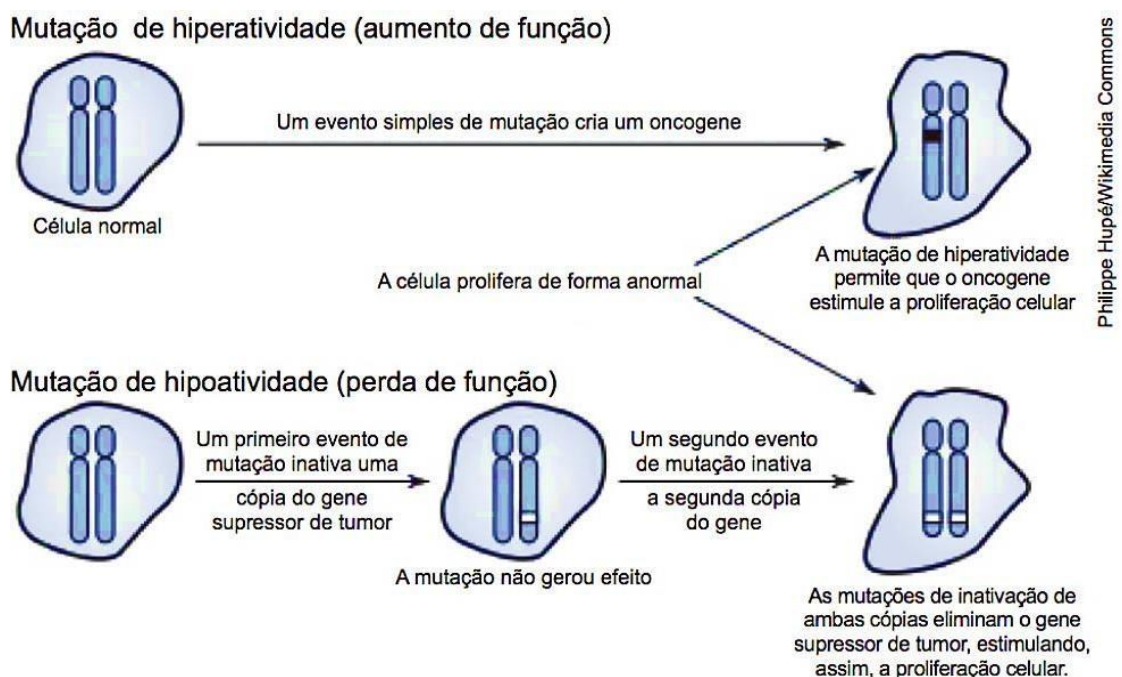
Os antiocongênes ou genes supressores tumorais codificam as proteínas responsáveis pela inibição de crescimento celular em condições normais, sendo fundamentais para regular os processos de proliferação celular e apoptose. Quando mutações ocorrem nas duas cópias de um gene supressor, a célula não encontra uma barreira para a sua proliferação e, dessa forma, inicia a formação de um tumor (Figura 5). Tais genes podem ser classificados em promotores, quando removem restrições para a proliferação celular, e vigilantes, que atuam no reparo do DNA com o objetivo

de assegurar a integridade do genoma (MEDRADO, 2015)

O gene p53 é um o gene supressor de tumor mais comum quando falamos de câncer, ele é ativado em resposta a danos celulares. P53 realiza o check point entre a fase S e G2 promovendo a parada do ciclo celular e permitindo o reparo no DNA. É um gene de grande importância pois a detecção da alteração desse gene pode se dar como diagnóstico, por esse motivo esse gene é um alvo para o tratamento do câncer através da terapia gênica (Fett-Conte e Salles 2002).

Os tratamentos existentes para o câncer consistem em cirurgia, quimioterapia e radioterapia, porém, são tratamentos com grandes efeitos colaterais, os quais debilitam consideravelmente os pacientes. Por essa razão, há grande interesse em pesquisas que busquem outros recursos terapêuticos. Um importante método consiste na terapia genética por RNAi, um dos tratamentos mais estudados na atualidade e que têm apresentado grande destaque (INCA, 2011).

**Figura 5 – Mutação de hiperatividade e hipoatividade: formação de tumor**



Fonte: Medrado (2015)

## 1.4 Ácidos nucleicos

Os ácidos nucleicos são constituídos por sequências de nucleotídeos, os

quais, por sua vez, são formados por uma pentose, um grupo fosfato e uma base nitrogenada. Tais bases podem ser do tipo purina (adenina ou guanina) ou pirimidina (timina, uracila e citosina). Dentre as funções dos ácidos nucleicos, podemos dizer que, de maneira geral, estes são responsáveis por armazenar informações genéticas, necessárias à construção e manutenção de todos os seres vivos, e pelo controle da expressão gênica, a síntese de proteínas (BORGES- OSÓRIO; ROBINSON, 2013).

#### **1.4.1 DNA – Ácido Desoxirribonucleico**

A pentose que compõe a molécula do DNA não apresenta um átomo de oxigênio no carbono 2', sendo esse o motivo pelo qual o DNA é chamado de desoxirribose. O DNA se apresenta como uma dupla fita na qual as bases dos nucleotídeos se unem por meio de ligações de hidrogênio. Tal ligação, também chamada pareamento, segue uma regra específica, onde a adenina de uma fita sempre se liga a timina da outra fita, e a guanina sempre se liga a citosina. As diferentes sequências de bases nitrogenadas no DNA, formam regiões distintas nessa molécula, sendo muitas delas não codificantes. Outras regiões, formadas por sequências específicas de bases nucleotídicas, entretanto, possuem informações imprescindíveis à síntese de proteínas, sendo denominada genes (ZAHA; FERREIRA; PASSAGLIA, 2014).

Mas, para que a informação contida no DNA, na forma de nucleotídeos, dê origem a uma proteína, primeiro é necessário que moléculas quimicamente semelhantes ao DNA sejam sintetizadas. Essas moléculas consistem em outro tipo de ácido nucléico, o RNA (Ácido Ribonucleico). Durante o ciclo celular, mas intensamente nas fases de G1 e G2, uma enzima chamada RNA Polimerase catalisa a polimerização das moléculas de RNA, num processo chamado de transcrição. Durante tal processo, a RNA Polimerase reconhece regiões específicas dos genes, os promotores, onde se liga e inicia o processo de transcrição, a partir do princípio da complementaridade (ALBERTS et al., 2017).

#### **1.4.2 RNA – Ácido Ribonucleico**

Quimicamente falando, o RNA é semelhante ao DNA, entretanto, a pentose, que compõe os nucleotídeos de RNA apresenta um grupo hidroxila no carbono 2',

sendo, portanto, denominada ribose. Além disso o RNA é formado por uma fita simples, ainda que esta possa dobrar-se sobre si, originando estruturas secundárias. Também as bases nitrogenadas que compõem o RNA apresentam uma diferença quando comparadas com as do DNA, uma vez que, o RNA possui uma uracila no lugar da timina. A uracila consiste numa estrutura de anel único assim como a timina, sendo classificada como pirimidina. O RNA difere do DNA, ainda, por consistir em diferentes classes de moléculas, que executam as mais variadas funções celulares (WATSON; BAKER; BELL, 2015).

A transcrição, processo pelo qual o RNA é sintetizado, ocorre, nos eucariotos, por meio das enzimas RNA polimerase I, II e III. Enquanto a RNA polimerase I é responsável por sintetizar o RNA pré-ribossômico, a RNA polimerase III sintetiza os tRNA, rRNA 5S e outros RNAs pequenos especializados. Já a RNA polimerase II sintetiza alguns RNAs especializados e o RNAm, que carrega os códons necessários à síntese de proteínas. A RNA polimerase II reconhece a região promotora, abre a fita de DNA formando a bolha de transcrição, e adiciona o primeiro nucleotídeo, denominado +1, transcreve a sequência '5 UTR (região não traduzida), sendo esse o local onde se encontra o operador. A RNA polimerase incorpora, então, os ribonucleotídeos, sempre no sentido 5' – 3', seguindo a complementariedade com a fita molde de DNA. O término da síntese de RNA se dá quando a RNA polimerase II encontra a sequência de terminação (terminador) na fita de DNA molde, originando o pré- mRNA (NELSON; COX, 2019).

O Pré-mRNA passa por alterações pós-transcricionais para se tornar funcional (mRNA maduro). A primeira alteração ocorre simultaneamente a síntese do RNA, e consiste na adição do CAP5', que tem como função proteger o mRNA da degradação e auxiliar no seu processo de tradução. A adição da cauda poli A ocorre logo após o término da transcrição, sendo adicionada na extremidade 3' do pré-mRNA uma sequência de cerca de 150 a 200 nucleotídeos de adenina. O Splicing é a alteração que ocorre quando o pré-mRNA, que já foi totalmente transcrito, onde ocorre a clivagem dos íntrons e união dos éxons, sendo a última etapa para a formação do mRNA maduro (VOET; VOET, 2013).

## 1.5 RNA de interferência

RNA de interferência (RNAi) é um mecanismo que regula a síntese proteica, por meio do silenciamento gênico pós-transcricional. A primeira observação sobre o RNAi se deu através de pesquisas em petúnias. Na ocasião, tais plantas receberam um transgene responsável por proporcionar a pigmentação floral roxa, porém isso não foi observado na prática. O que aconteceu foi que o transgene inoculado nas petúnias, promoveu a degradação do gene endógeno, fazendo com que nenhuma proteína para pigmentação fosse expressa nas flores, resultando em petúnias de cor branca (BAULCOMBE, 2002). Esse mecanismo foi estudado em 1998 por Andrew Z. Fire e Craig C. Mello, o que garantiu o Prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia no ano 2006 a estes pesquisadores. No referido estudo, os autores elucidaram os mecanismos de funcionamento RNAi no nematóide *Caenorhabditis elegans* (FIRE et al., 1998).

As moléculas de ácido ribonucleico que participam do mecanismo de RNAi se encontram dentro da classe de RNAs não codificantes (ncRNA), uma vez que não são traduzidos em proteínas. No geral, o mecanismo de RNAi é regulado por dois tipos de pequenos RNAs, os micros RNAs (miRNA) e os pequenos RNAs de interferência (siRNA), os quais, por sua vez, se originam a partir de RNAs de fita dupla (dsRNA). O silenciamento da expressão gênica por RNAi é um importante mecanismo, que não só protege as células contra genes exógenos (bactérias, vírus), como também contra genes endógenos que se movem pelo genoma, como os transposons. Nesse processo de interferência três mudanças importantes podem suprimir a expressão gênica: a inibição da tradução do RNAm alvo, a degradação do RNAm alvo e, até mesmo, a alteração da heterocromatina (MANSOORI; SHOTORBANI; BARADARAN, 2014) (MALONE; HANNON, 2009). Tão importante e versátil é a função desses RNAi que hoje eles vêm sendo amplamente estudados para uso na terapia gênica de diversas doenças, inclusive para o câncer. Alguns estudos disponíveis na literatura se mostraram promissores, tanto nos testes *in vitro* como *in vivo*, para distúrbios causados por um único gene ou no caso de superexpressão de proteínas (DYKXHOORN; PALISER; LIEBERMAN, 2006).

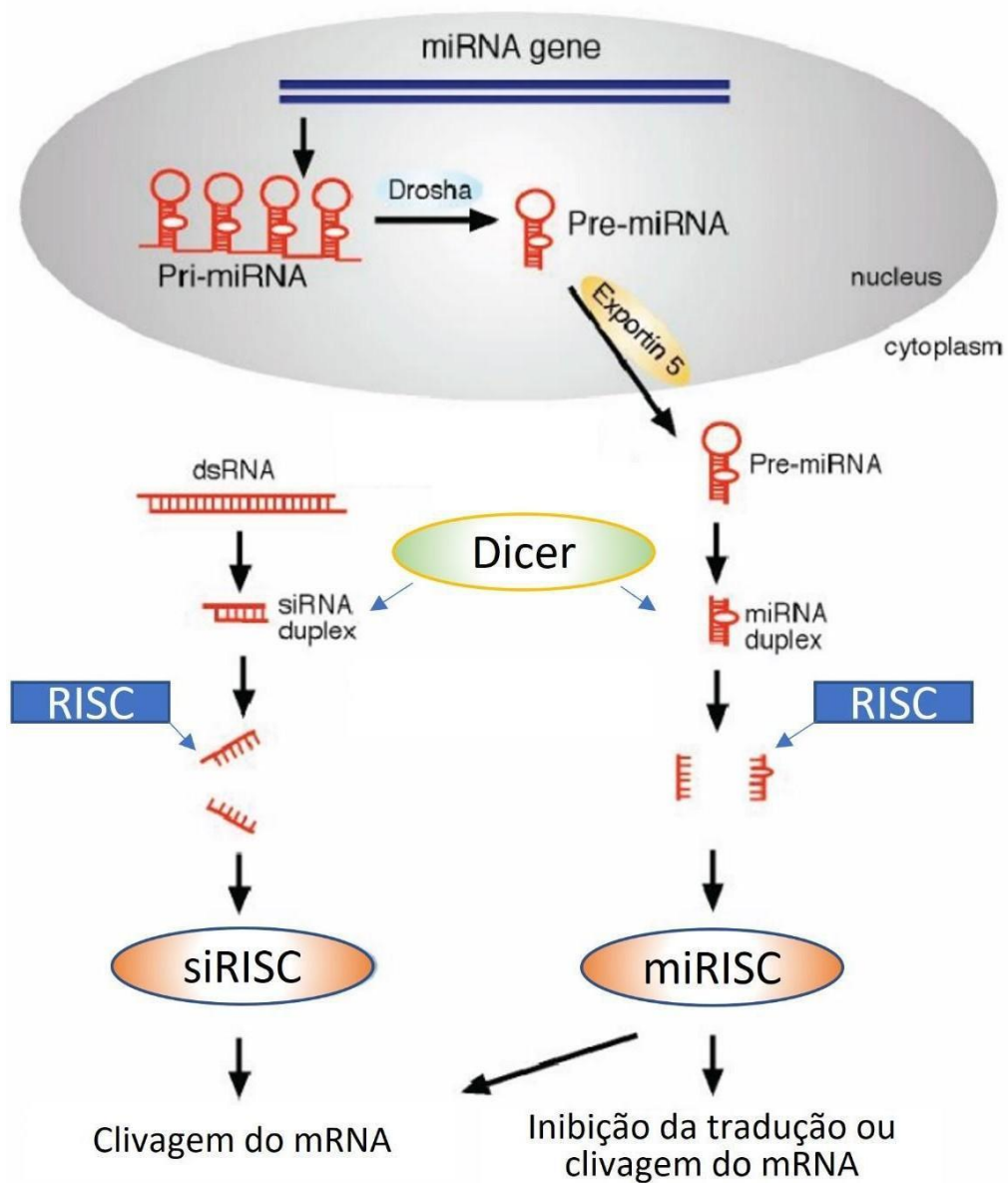
### 1.5.1 Biogênese dos miRNA e siRNA

Os miRNA e siRNA são produzidos a partir de RNA fita dupla (RNADs) precursores e possuem biogênese semelhante. Entretanto, suas origens diferem, uma vez que os miRNA são considerados endógenos, sendo resultado de produtos do genoma do próprio organismo (genes de miRNA) e, até mesmo, do processo de splicing (exóons e íntrons excisados). Já os RNAsi são gerados por precursores dupla fita presentes no citoplasma celular, cuja origem pode ser o genoma de vírus, transposons, quebras do DNA, ou mesmo miRNA primários (pri-miRNA) (MAIA, 2020).

Basicamente, o processo de formação dos miRNA inicia-se com a transcrição de uma molécula de pri-miRNA a partir de um gene de miRNA (via canônica). Outros miRNA primário podem, entretanto, se formar a partir de íntron e éxons clivados pelo splicing (via não canônica). Ainda no núcleo celular, o pri-miRNA é clivado pelo complexo Microprocessador, formado pela endonuclease Drosha (RNase III) e pela proteína ligadora de RNA, DGCR8 ou proteína Pasha, dando origem a miRNA precursores mais curtos (pre-miRNA), os quais em seguida são transportados para o citoplasma, pelo complexo proteína nuclear de ligação a GTP (RanGTP) e enzima exportina (XPO5) (KIM; KIM; KIM, 2016; MAIA, 2020).

No citoplasma, o pre-miRNA é clivado pela ribonuclease Dicer, tornando-se um miRNA maduro, cujo comprimento varia de 21 a 28 nucleotídeos de comprimento, em uma estrutura dupla fita. A partir daqui, as proteínas Argonautas que compõem o complexo RISC (Complexo de Silenciamento Induzido por RNA) separam as duas fitas da molécula de miRNA. Uma das fitas, a complementar ao RNAm alvo de silenciamento, permanece no complexo RISC (fita guia) e a outra fita é liberada e, posteriormente, degradada. A fita guia presente no complexo RISC forma o chamado miRISC e induz a ligação do complexo no RNAm alvo. O processo de biogênese dos siRNA é muito semelhante ao dos miRNA, entretanto, o mecanismo de ação dessas moléculas difere um pouco (JORGE, et al., 2021; MAIA, 2020). A figura 6 resume os principais aspectos do processo de biogênese dos RNAi.

Figura 6 – Biogênese de miRNA e siRNA



Adaptado de: Mark (2005).

Uma vez que os miRNA são codificados por um gene diferente dos genes nos quais irão atuar, eles são chamados reguladores trans. Por essa razão, os miRNA não possuem complementaridade perfeita com o alvo, de maneira que, apenas a região seed da sua sequência é complementar ao mRNA alvo, algo que compreende 6 a 7 nucleotídeos (MAIA, 2020). Devido à essa menor complementaridade, um miRNA é capaz de regular inúmeros mRNAs distintos (REDDY, 2015). O mecanismo de ação dessas moléculas conta com a ligação do complexo miRISC à região não traduzida

da extremidade 3' (3'UTR) do mRNA alvo e consequente silenciamento gênico. Os miRNA podem clivar a molécula de mRNA (slicing), mas, devido sua menor complementariedade, geralmente silenciam os genes interrompendo processo de tradução, por impedir o reconhecimento da molécula de mRNA pelos fatores de iniciação da tradução, induzir a desmontagem das subunidades ribossomais ou degradar peptídeos recém-sintetizados (JORGE, et al., 2021; MAIA, 2020).

Já os siRNA apresentam completa complementariedade com o seu mRNA alvo, pois, normalmente são gerados a partir de um gene transcrito e atuam na regulação desses mesmos genes, sendo, portanto, denominados reguladores cis. Uma vez que possuem alta especificidade ao mRNA alvo, os siRNA ao se ligarem a essa molécula a induzem a sua degradação, inibindo o processo de síntese proteica. Assim sendo, os mecanismos de RNAi têm por objetivo manter a integridade genômica, regulando a expressão gênica (COWLAND; HOTHER; GRØNBÆK, 2017; RICARTE-FILHO; KIMURA, 2006; MAIA, 2020). Dado a essa propriedade, siRNA e miRNA têm sido amplamente investigados, objetivando sua utilização na terapêutica de diversos tipos de doenças, incluindo o câncer (FRANÇA et al., 2010).

### **1.6 Entrega não viral e viral**

A dificuldade da entrega de ácidos nucleicos está associada na passagem da membrana plasmática para o núcleo devido a cargas, tamanhos e a fácil degradação desse material. Para auxiliar na entrega utilizamos vetores podendo ser virais ou não virais (S. Chira et al, 2015).

A entrega por vetor não viral ocorre de maneira mecânica por quebra temporária da membrana celular e por abordagens químicas por meio de lipossomas ou polímeros que são complexados com os genes terapêuticos facilitando a entrega. Essa entrega está associada a um menor risco de respostas imunológicas e risco de mutagênese por inserção (TRAPANI, PUPPO, AURICCHIO, 2014).

Os vetores virais também são considerados para entrega desse material possuindo uma maior eficácia na entrega. Porém como se trata de um agente patógeno é necessário alterações para uso clínico. Essa entrega trás especificidade sendo possível a propagação do material genético sem se multiplicarem. Os vetores virais mais utilizados são os adenovírus, retrovírus e vírus adenoassociados (BISCAIA, 2020).



## REFERÊNCIAS

- ALBERTS, Bruce. **Fundamentos da Biologia Celular**. Londrina: Artmed Editora, 2017.
- BAULCOMBE, David. RNA silencing. **Current biology**, v. 12 p. R82-R84, 2002.
- BORGES-OSÓRIO, Maria Regina L.; ROBINSON, Wanyce M. **Genética Humana**. Rio Grande do Sul: Grupo A, 2013.
- BISCAIA, Carolina. **Terapia gênica: sistemas de entrega, mecanismos moleculares e abordagens terapêuticas aprovadas**. 2020. Tese de Doutorado.
- CARVALHO, Dionísio Dias Aires de. **Desenvolvimento de módulo de detecção de miRNA para dispositivo biomédico de triagem de câncer**. 2021. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.
- COWLAND, Jack B.; HOTHER, Christoffer; GRØNBAEK, Kirsten. **MicroRNAs e câncer**. **Apmis**, v. 115 p. 1090-1106, 2007.
- DENLI, A.M. & HANNON, G.J. 2003. RNAi: An ever-growing puzzle. **Trends in Biochemical Sciences** 28:196-201.
- DYKXHOORN, DM; PALISER, D.; LIEBERMAN, J. O tratamento silencioso: siRNAs como drogas de pequenas moléculas. **Terapia genética**, v. 13 p. 541-552, 2006.
- FIRE, Andrew et al. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. **nature**, v. 391, n. 6669, p. 806-811, 1998. *Natureza* 391: 806-811.
- FRANÇA, Natália Regine de et al. Interferência por RNA: Uma nova alternativa para terapia nas doenças reumáticas. **Rev Bras Reumatol**, v. 50, p. 695-709, 2010.
- Fett-Conte, Agnes C. e Salles, Andréa B. C. F. A importância do gene p53 na carcinogênese humana. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**. 2002, v. 24.
- GRIFFITHS, DOEBLEY, PEICHEL et al. **Introdução à Genética**. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2022.
- IARC (2021). **IARC Biennial Report 2020–2021**. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Available from: <https://publications.iarc.fr/607>. Licence: CC BY-NC-ND 3.0 IGO.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. **Como surge o câncer?** | INCA - Instituto Nacional de Câncer. Rio de Janeiro: INCA, 2021. <Como surge o câncer? — Português (Brasil) (www.gov.br)>. Acessado 20 de setembro 2022.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. **Como se comportam as células cancerosas?** | INCA - Instituto Nacional de Câncer. Rio de Janeiro: INCA, 2020. <Como se comportam as células cancerosas? — Português (Brasil) (www.gov.br)> Acessado 20 de setembro 2022.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (Brasil). **ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer** / Instituto Nacional de Câncer. – Rio de Janeiro: Inca, 2011. 128 p.

JORGE, Ariany Lima, et al. MicroRNAs: entendendo seu papel como reguladores da expressão gênica e seu envolvimento no câncer. **einstein (São Paulo)**, v. 19, eRB5996, 2021.

JUNQUEIRA, Luiz Carlos U.; CARNEIRO, José. **Histologia Básica - Texto e Atlas**. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2017.

KIM, Young-Kook; KIM, Boseon; KIM, V. Narry. Re-evaluation of the roles of DROSHA, Exportin 5, and DICER in microRNA biogenesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 113 p. E1881-E1889, 2016.

KUMAR, Vinay. **Robbins Patologia Básica**. Guanabara Koogan: Grupo GEN, 2018.

LAKATOS, E.; MARCONI, M. Metodologia Científica (2.ª edição, pp. 159-209). **São Paulo: Editora Atlas**, 1992.

LODISH, Harvey. **Biología celular y molecular**. Ed. Médica Panamericana, 2005.

MAIA, Maria de Mascena Diniz. **Conceitos básicos de epigenética para universitários**. Recife: EDUFRPE, 2020.

MALONE, Colin D.; HANNON, Gregory J. Small RNAs as guardians of the genome. **Cell**, v. 136 p. 656-668, 2009.

MANSOORI, Behzad; SHOTORBANI, Siamak Sandoghchian; BARADARAN, Behzad. RNA interference and its role in cancer therapy. **Advanced pharmaceutical bulletin**, v. 4 p. 313, 2014.

MAK J. RNA interference: more than a research tool in the vertebrates' adaptive immunity. **Retrovirology**, v.2, 35, 2005.

MEDRADO, Leandro. **Carcinogênese - Desenvolvimento, Diagnóstico e Tratamento das Neoplasias**. São Paulo: Editora Saraiva, 2015.

MONTGOMERY, Mary K.; XU, SiQun; FIRE, Andrew. RNA as a target of double-stranded RNA-mediated genetic interference in *Caenorhabditis elegans*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 95 p. 15502-15507, 1998.

NELSON, David L.; COX, Michael M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. Artmed: Grupo A, 2019.

NEUFELD, Paulo Murillo. Personagem da História da Saúde VIII: Rudolf Virchow. **Rev. bras. anal. clin**, p. 264-267, 2019.

OPPERMANN, Christina Pimentel. **Entendendo o câncer**. Londrina: Artmed Editora, 2014.

PEREIRA, Cynthia Assunção Gomes et al. Influência dos Cânceres Gástrico e Hematológico na Qualidade de Vida e na Funcionalidade de Pacientes Oncológicos. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 68 p, 2022.

PRADO, Eleandro do et al. Vivência de pessoas com câncer em estágio avançado ante a impossibilidade de cura: análise fenomenológica. **Escola Anna Nery**, v. 24, 2020.

PIACENTINI, Amanda Bernardini; MENEZES, Hércules. Recentes aspectos sobre a biologia do câncer e das metástases. **Saúde e Pesquisa**, v. 5, n. 3, 2012.

REDDY, Kaladhar B. MicroRNA (miRNA) in cancer. **Cancer cell international**, v. 15 p. 1-6, 2015.

RICARTE FILHO, Júlio; KIMURA, Edna Teruko. MicroRNAs: nova classe de reguladores gênicos envolvidos na função endócrina e câncer. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 50, p. 1102-1107, 2006.

ROSA, Cristina et al. RNA interference mechanisms and applications in plant pathology. **Annual review of phytopathology**, v. 56, p. 581-610, 2018.

S. Chira et al., “Progresses towards safe and efficient gene therapy vectors.,” **Oncotarget**, vol. 6, no. 31, pp. 30675–703, Oct. 2015, doi: 10.18632/oncotarget.5169.

SIDDIQUI, Imtiaz A. et al. Resveratrol nanoformulation for cancer prevention and therapy. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1348, n. 1, p. 20-31, 2015.

TRAPANI, Ivana; PUPPO, Agostina; AURICCHIO, Alberto. Vector platforms for gene therapy of inherited retinopathies. **Progress in retinal and eye research**, v. 43, p. 108-128, 2014.

UMAR, Meenakshi; SASTRY, Konduru S.; CHOUCANE, Aouatef I. Papel da vitamina D além da função esquelética: uma revisão dos estudos moleculares e clínicos. **Revista Internacional de Ciências Moleculares**, v. 19 p VOET, Donald; VOET, Judith G. **Bioquímica**. Artmed: Grupo A, 2013.

XIN, Yong et al. Nano-based delivery of RNAi in cancer therapy. **Molecular cancer**, v. 16 p. 1-9, 2017.

WATSON, James D.; BAKER, Tania A.; BELL, Stephen P.; et al. **Biologia Molecular do Gene**. Artmed: Grupo A, 2015.

ZAHA, Arnaldo; FERREIRA, Henrique B.; PASSAGLIA, Luciane M P. **Biologia molecular básica**. Artmed: Grupo A, 2014.

## 2 ANEXO A

### Uso de RNAi na terapia contra o câncer e os desafios na entrega

JESUS, Dyessica Kerolaine Oliveira de<sup>1</sup>; GODOY, Sara Mataroli de<sup>1</sup>

#### RESUMO

O câncer se origina a partir de falhas no controle genético dos processos de divisão celular, alterando o funcionamento de proto-oncogenes e genes supressores tumorais. Na busca por terapias eficientes contra células cancerosas, o uso de RNAs não codificantes tem se mostrado animador. Este trabalho tem como objetivo caracterizar o uso de RNA de interferência (RNAi) na terapia gênica contra o câncer, e para isso, uma revisão bibliográfica sistematizada foi realizada. Várias pesquisas satisfatórias e promissoras têm sido desenvolvidas com a aplicação de RNAi no diagnóstico e terapia contra o câncer. E, apesar de recente e de enfrentar alguns desafios quanto a forma de entrega das moléculas de RNAi nos tecidos, sua utilização é extremamente vantajosa, pois permite o silenciamento de genes defeituosos e reduz a resistência às drogas utilizadas no combate à doença.

**Palavras-chave:** Silenciamento gênico, RNA não codificante, mutação no DNA.

#### ABSTRACT

Cancer originates from failures in the genetic control of cell division processes, changing the functioning of proto-oncogenes and tumor suppressor genes. In the search for efficient therapies against cancer cells, the use of non-coding RNAs has been encouraging. This work aims to characterize the use of RNA interference (RNAi) in gene therapy of cancer, and for that, a systematic literature review was performed. Several satisfactory and promising research have been developed with the application of RNAi in the diagnosis and therapy of cancer. And, despite being recent and facing some challenges regarding the way of delivering RNAi molecules to tissues, its use is extremely advantageous, as it allows the silencing of defective genes and reduces resistance to drugs used to combat the disease.

**Keywords:** Gene silencing, non-coding RNA, DNA mutation.

<sup>1</sup>Acadêmica do curso de Biomedicina da Faculdade de Apucarana – FAP. E-mail: [dyessicakerolaine@gmail.com](mailto:dyessicakerolaine@gmail.com)

<sup>2</sup>Orientadora. Docente Dra. do curso de Biomedicina da Faculdade de Apucarana – FAP. E-mail: [godoy.sm@hotmail.com](mailto:godoy.sm@hotmail.com)

## INTRODUÇÃO

O câncer é classificado como patologia não transmissível e reconhecido como a segunda principal doença que mais se desenvolve no mundo, sendo um obstáculo para o aumento da sobrevida da população, especialmente em países de baixa e média renda (PEREIRA et al., 2022). Como tal patologia é agressiva, possui alto grau de complexidade e diferentes mecanismos de desenvolvimento e dispersão, a busca por novos tratamentos tem se tornado constante e necessária, sempre objetivando a reversão do processo de carcinogênese (PRADO et al., 2020). De acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA), o câncer de próstata (29,2%), de pele não melanoma (27,1%), cólon e reto (9,1%), pulmão (7,9%), estômago (5,9%) e cavidade oral (5,0%) são os mais comuns para o sexo masculino. Já para o sexo feminino, os cânceres que mais se desenvolvem são os de mama (29,7%), câncer de pele não melanoma (29,5%), cólon e reto (9,2%), colo do útero (7,5%), pulmão (5,6%) e tireoide (5,4%) (INCA, 2020).

A carcinogênese ou oncogênese, é cumulativa e pode levar anos até que um tumor, passível de ser detectado clinicamente, possa se formar, já que esse processo se dá pela mutação de genes da célula, o que pode ser algo demorado (INCA, 2021). Vários agentes cancerígenos ou carcinogênicos são capazes de induzir mutações no DNA, dentre eles subprodutos metabólicos celulares, compostos químicos exógenos, hormônios, radiações e infecções virais (LODISH, 2015). De maneira geral, tais agentes alteram a sequência e funcionamento de genes de forma recorrente, culminando em falhas do controle do ciclo celular, o que altera o equilíbrio entre a apoptose e a proliferação celular, propiciando o desenvolvimento de tumores devido à divisão celular desenfreada.

Os genes cujas mutações afetam o ciclo celular são os proto-oncogenes e os genes supressores tumorais. Os proto-oncogenes codificam os fatores de crescimento, responsáveis por sinalizar as células para que iniciem o processo de divisão celular. Entretanto, mutações nesses genes podem fazer com os mesmos permaneçam constantemente ativos, culminando na proliferação celular contínua, momento a partir do qual tais genes passam a ser denominados oncogenes e o desenvolvimento neoplásico que inicia (BORGES-OSÓRIO; ROBINSON, 2013). Já os genes supressores tumorais codificam as proteínas responsáveis pela inibição de crescimento celular que, em condições normais, regulam os processos de proliferação celular e apoptose. Portanto, a função de tais genes é manter a integridade genômica, de maneira que

alterações no seu funcionamento desencadeiam o desenvolvimento de tumores (MEDRADO, 2015).

As causas e tratamentos para o câncer têm sido estudadas há anos, porém o desenvolvimento de terapias eficazes possui suas limitações e, por essa razão, os principais métodos utilizados contra essa patologia ainda são a cirurgia, quimioterapia e radioterapia. Entretanto, essas abordagens geralmente resultam grandes efeitos colaterais, os quais acabam debilitando consideravelmente o paciente. Como o câncer é uma doença complexa, devido principalmente ao microambiente tumoral, gerado pelo desajuste nas vias de controle das células alteradas, a busca por alternativas como a terapia gênica se faz essencial, já que esta tem como objetivo o silenciamento de um gene indesejável, impedindo a síntese de proteínas anômalas, o que torna essa terapia uma possibilidade atraente (XIN et al., 2017).

Uma opção notável dentro da terapia gênica são os RNAi (RNA de interferência), mecanismos celulares que naturalmente regulam a síntese proteica, executando tal processo por meio do silenciamento gênico pós-transcricional. Tão importante e versátil é a função desses RNAi que hoje eles vêm sendo amplamente estudados para uso na terapia gênica de diversas doenças, inclusive para o câncer. Alguns estudos disponíveis na literatura se mostraram promissores, tanto nos testes *in vitro* como *in vivo*, para distúrbios causados por um único gene ou no caso de superexpressão de proteínas (DYKXHOORN; LIEBERMAN, 2006).

Um sério desafio para a implementação eficaz desse tratamento, entretanto, é a entrega dos RNAi aos tecidos onde se encontram os tumores, sendo os principais métodos descritos na literatura o viral e o não viral e, mais recente, a entrega utilizando nanopartículas, que inclusive têm conseguido a atenção de diferentes pesquisadores (XIN et al., 2017). Ainda assim, o sistema não viral é o mais estudado ultimamente, destacando-se o uso de lipídeos catiônicos ou ionizáveis, a depender da célula alvo. Somado a isso, a entrega pelo sistema não viral tende a deixar menos sequelas, impedindo o desencadeamento de um outro tipo de doença (KULKARNI et al., 2018). Considerando o exposto, o objetivo do presente estudo consistiu na caracterização dos RNAs de interferência (RNAi) e descrição dos sistemas de entrega destes.

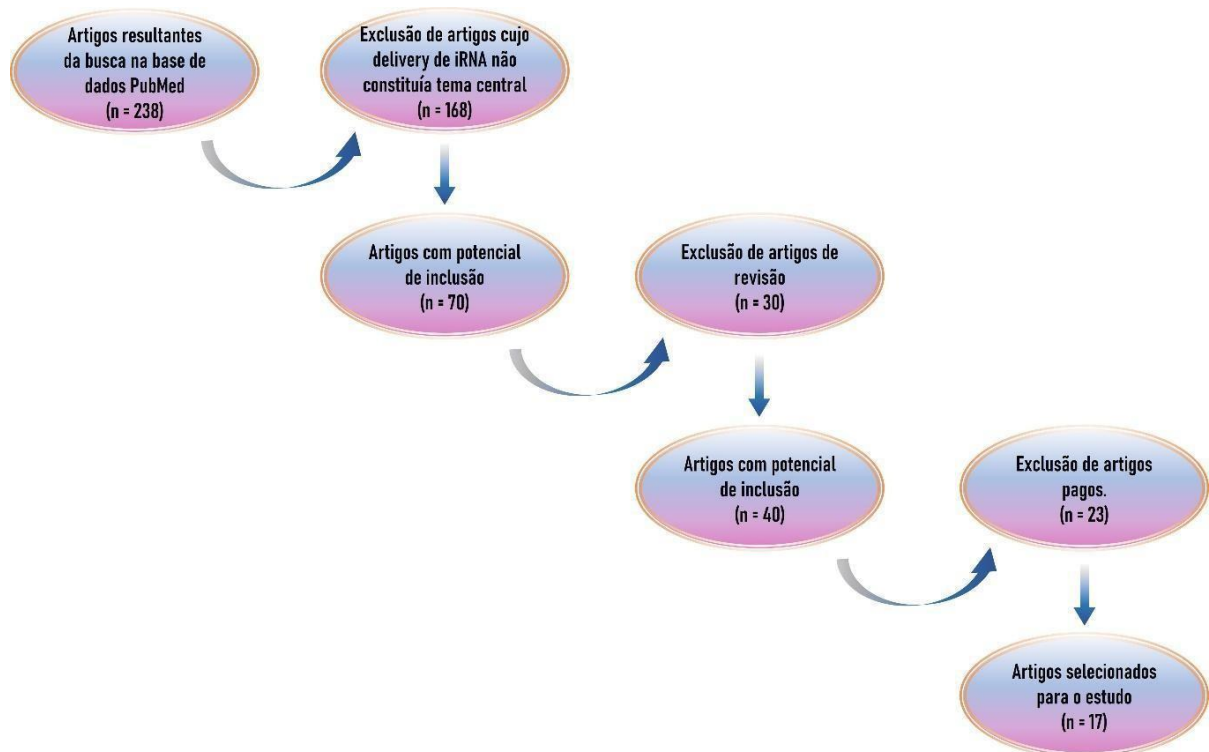
## **METODOLOGIA**

Este trabalho é uma revisão de literatura e, por tanto, a coleta de dados consistiu em pesquisa bibliográfica, utilizando-se para isso bases de dados científicos disponíveis on-line. Foram utilizados, além de livros, artigos científicos disponíveis na base Pubmed, utilizando-se os termos “RNAi”, “Gene Therapy” e “Cancer”. Para a caracterização da biogênese e mecanismos de ação dos RNAi foi adotada a metodologia de revisão bibliográfica narrativa. Já para descrição dos métodos de entrega de RNAi, das palavras-chave definidas, foram estabelecidos critérios de inclusão e exclusão para limitar a busca na literatura e selecionar os artigos mais relevantes. Os critérios compreenderam o idioma da publicação, sendo selecionados os redigidos em português e inglês; o período de publicação, restrito aos anos de 2017 e 2022; a abordagem dos métodos de entrega de RNAi; artigos cujos dados fossem originais; e possibilidade de acesso gratuito.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Para a caracterização dos RNAi, sua biogênese e modo de ação, foram utilizados os artigos mais recentes e relevantes, cuja escrita se mostrou clara e objetiva.

Para a descrição das metodologias de entrega, após a indexação dos termos “RNAi”, “Gene therapy” e “Cancer”, na base de dados científicos PubMed, foram encontrados 238 artigos relacionados. A leitura do resumo dos referidos artigos culminou com a exclusão de 168 artigos, os quais não tratavam sobre os métodos de entrega do RNAi, restando, assim, 70 artigos de interesse. Dos artigos restantes, 30 foram excluídos, pois não consistiam de pesquisas originais, mas revisões. Por fim, dos 40 artigos restantes, 23 artigos não puderam ser acessados, haja vista que eram pagos. Por essa razão apenas 17 artigos foram selecionados, os quais apresentam grande relevância para o presente estudo. A figura 1 traz um resumo da seleção de artigos.



**Figura 1.** Etapas do processo de seleção dos artigos utilizados no presente estudo.

FONTE: GODOY (2022).

### Caracterização e biogênese dos RNAi

As moléculas mais estudadas para aplicação terapêutica do câncer são os RNA não-codificantes (RNAnc), reconhecidos pelas funções relacionadas ao controle da expressão gênica e a manutenção da integridade genômica. Dentre as classes de RNAnc, os RNAs de interferência (RNAi), têm sido testados em terapias gênicas voltadas ao tratamento de diversas doenças, incluindo o câncer (FRANÇA et al., 2010).

O RNAi consiste num mecanismo de silenciamento gênico que ocorre, geralmente, por meios de duas vias: a produção de micro RNAs (RNAmi) e os pequenos RNAs de interferência (RNAsi) (MANSOORI; SANDOGHCHIAN; BARADARAN, 2014). Os miRNA e siRNA são produzidos a partir de RNA fita dupla (RNAds) precursores e possuem biogênese semelhante. Entretanto, suas origens diferem, uma vez que os miRNA são considerados endógenos, sendo resultado de produtos do genoma do próprio organismo (genes de miRNA) e, até mesmo, do processo de splicing (exóns e íntrons excisados). Já os RNAsi são gerados por precursores dupla fita presentes no citoplasma celular, cuja origem pode ser o genoma de vírus, transposons, quebras do DNA, ou mesmo miRNA primários (pri-miRNA) (MAIA, 2020).



Basicamente, o processo de formação dos miRNA inicia-se com a transcrição de uma molécula de pri-miRNA a partir de um gene de miRNA (via canônica). Outros miRNA primário podem, entretanto, se formar a partir de íntron e éxons clivados pelo splicing (via não canônica). Ainda no núcleo celular, o pri-miRNA é clivado pelo complexo Microprocessador, formado pela endonuclease Drosha (RNase III) e pela proteína ligadora de RNA, DGCR8 ou proteína Pasha, dando origem a miRNA precursores mais curtos (pre-miRNA), os quais em seguida são transportados para o citoplasma, pelo complexo proteína nuclear de ligação a GTP (RanGTP) e enzima exportina (XPO5) (KIM; KIM; KIM, 2016; MAIA, 2020).

No citoplasma, o pre-miRNA é clivado pela ribonuclease Dicer, tornando-se um miRNA maduro, cujo comprimento varia de 21 a 28 nucleotídeos de comprimento, em uma estrutura dupla fita. A partir daqui, as proteínas Argonautas que compõem o complexo RISC (Complexo de Silenciamento Induzido por RNA) separam as duas fitas da molécula de miRNA. Uma das fitas, a complementar ao RNAm alvo de silenciamento, permanece no complexo RISC (fita guia) e a outra fita é liberada e, posteriormente, degradada. A fita guia presente no complexo RISC forma o chamado miRISC e induz a ligação do complexo no RNAm alvo. O processo de biogênese dos siRNA é muito semelhante ao dos miRNA, entretanto, o mecanismo de ação dessas moléculas difere um pouco (JORGE, et al., 2021; MAIA, 2020).

Uma vez que os miRNA são codificados por um gene diferente dos genes nos quais irão atuar, eles são chamados reguladores trans. Por essa razão, os miRNA não possuem complementariedade perfeita com o alvo, de maneira que, apenas a região seed da sua sequência é complementar ao mRNA alvo, algo que compreende 6 a 7 nucleotídeos (MAIA, 2020). Devido à essa menor complementariedade, um miRNA é capaz de regular inúmeros mRNAs distintos (REDDY, 2015). O mecanismo de ação dessas moléculas conta com a ligação do complexo miRISC à região não traduzida da extremidade 3' (3'UTR) do mRNA alvo e consequente silenciamento gênico. Os miRNA podem clivar a molécula de mRNA (slicing), mas, devido sua menor complementariedade, geralmente silenciam os genes interrompendo processo de tradução, por impedir o reconhecimento da molécula de mRNA pelos fatores de iniciação da tradução, induzir a desmontagem das subunidades ribossomais ou degradar peptídeos recém-sintetizados (JORGE, et al., 2021; MAIA, 2020).

Já os siRNA apresentam completa complementariedade com o seu mRNA alvo, pois, normalmente são gerados a partir de um gene transcrito e atuam na regulação desses mesmos genes, sendo, portanto, denominados reguladores cis. Uma vez que possuem alta especificidade ao mRNA alvo, os siRNA ao se ligarem a essa molécula a induzem a sua degradação, inibindo o processo de síntese proteica. Assim sendo, os mecanismos de RNAi têm por objetivo manter a integridade genômica, regulando a expressão gênica (COWLAND; HOTHER; GRØNBÆK,

2007; RICARTE-FILHO; KIMURA, 2006; MAIA, 2020). Dado a essa propriedade, siRNA e miRNA têm sido amplamente investigados, objetivando sua utilização na terapêutica de diversos tipos de doenças, incluindo o câncer (FRANÇA et al., 2010).

No câncer de pulmão, por exemplo, as terapias de RNAi são baseadas em moléculas reguladoras das vias celulares, como a proliferação celular, migração e apoptose, que direcionam e entregam genes terapêuticos para células cancerosas, de forma eficaz, através do uso de nanocarreadores e biomarcadores conhecidos para este tipo de câncer. No câncer pancreático, muito invasivo, letal e resistente à medicamentos, o RNAi, mostrou um alto potencial de tratamento, além de reduzir a resistência das células cancerosas à radioterapia e quimioterapia, quando combinado com estas. Como resultado, recentemente, foi possível o desenvolvimento de um agente terapêutico baseado em miRNA contra câncer de pâncreas (TIAN et al., 2021).

A aplicação de RNAi no tratamento de vários outros tipos de câncer como o de mama, colorretal, ovariano, gástrico, cervical, etc., tem sido amplamente estudada (TIAN et al., 2021). O silenciamento do gene supressor de tumor p53 mutante, por interferência de RNA, inibiu a proliferação e viabilidade celular no câncer de bexiga, levando à parada do ciclo celular na fase G2 e induzindo a apoptose, evidenciando que a aplicação de RNAi pode ser uma estratégia terapêutica promissora para o tratamento desse tipo de câncer (ZHU et al., 2013). Um estudo realizado por Carvalho (2021) desenvolveu um dispositivo para triagem do câncer de mama, próstata e colo de útero, que possibilita detectar e quantificar a miRNA, se mostrando promissor na triagem de pacientes e na redução de custos na área da saúde.

### **Mecanismos de entrega dos RNAi**

As terapias baseadas em RNAi, entretanto, apresentam instabilidade e dificuldade de entrega de microRNA (miRNA) ao tecido afetado. Ainda, assim, os nanoterapêuticos de RNAi baseados em nanopartículas plasmônicas têm sido desenvolvidos para diagnóstico preciso e sensível, além de possuírem um forte efeito terapêutico em cânceres (YOON et al., 2022). No câncer de mama Valle et al. (2020) verificaram grande eficácia na entrega de siRNA para o silenciamento do gene HOXB7, cuja superexpressão está, geralmente, relacionada a resistência às drogas utilizadas no tratamento, como o tomoxifeno. A utilização de RNAi no combate ao

câncer, tem se mostrado altamente promissora, porém seu sucesso como abordagem terapêutica depende dos alvos eficiência na entrega. A entrega de RNAi ainda é um obstáculo, e os meios de transporte mais comuns são os chamados virais e não virais, sendo os não virais os mais utilizados. Além desses, a entrega de RNAi por meio de nanopartículas tem atraído os pesquisadores (XIN et al., 2017) (KULKARNI et al., 2018). Os resultados obtidos a partir da revisão bibliográfica podem ser visualizados na tabela 1.

**Quadro 1.** Relação dos estudos sobre entrega de RNAi. Além do autor e ano, a tabela traz o objetivo do estudo, o método utilizado e os principais resultados obtidos.

Autor/ano	Objetivo	Método	Resultados
REN et al., 2017	Projetar um novo sistema de RNAi responsivo a NIR baseado no promotor Hsp70B' permitindo o controle fototérmico da eficiência de RNAi em células tumorais maligna e avaliar a atividade antitumoral do sistema de terapia gênica controlável tanto em vitro e in vivo.	Foram elaborados 5 plasmídeos, sendo 3 com promotor HSP e 2 com o promotor CMV. Para avaliar a transfecção e transcrição do promotor HSP70B' em células MCF-7.	Obteve o knockdown gênico controlado, com sucesso, levando ao aprimoramento da eficácia da terapia gênica e à mitigação de efeitos fora do alvo.
LU et al., 2019	Foi utilizado micelas DMP para entregar siRNA observando a eficiência e segurança de micelas DMP para entregar siRNA. Foi utilizado o siRNA Bcl-xl e o siRNA Mcl1 como alvo terapêutico, para o tratamento do câncer de cólon in vitro e in vivo.	Preparação das micelas DMP e desenho de um siRNA direcionado a Bcl-xl e um siRNA direcionado a Mcl1 para estudar sua atividade anticâncer. A capacidade de interferência de Bcl-xl siRNA e Mcl1 siRNA foi dada por qPCR. Foram também utilizadas micelas de DMP para entregar siRNA em células C26. Camundongos BALB que foram serviram de modelo xenoenxerto C26, receberam aplicações de complexos DMP/siRNA.	Foi demonstrado que DMP/siBcl-xl e DMP/siMCL1 reduziram eficientemente o nível de mRNA relevante.

Autor/ano	Objetivo	Método	Resultados
ASHAIE et al., 2019	Utilizar proteínas de adesão celular catenina alfa 1 (CTNNA1), catenina beta 1 (CTNNB1), talina-1 (TLN1), vinculina (VCL), paxilina (PXN) e actinina -1 (ACTN1) como via de entrega facilitada por nano-portador CA de siRNAs específicos investigando seus potenciais papéis terapêuticos na inibição da proliferação e sobrevivência de células de câncer de mama in vitro e no modelo murino de câncer de mama.	Foram cultivadas linhas celulares MCF-7, MDA-MB-231 e 4T1. Os siRNA que foram direcionados para CTNNA1, CTNNB1, TLN1, VCL, PXN e ACTN1, Para o teste in vivo foi utilizado camundongos Balb que foi injetado siRNA-CA 4 doses, com dois dias de intervalo da dose anterior. O paquímetro foi usado para medir o volume do tumor.	O tratamento de células MCF-7, MDA-MB-231 e 4T1 por via da entrega de siRNA-CA mostrou efetividade celulares variados, com base no ensaio MTT.
ZHANG, Qingfei et al., 2020.	Desenvolver nanopartículas poliméricas de pró-droga de Pt(IV) fotoativadas para entrega de si(c-fos) controlada por luz e quimioterapia fotoativada sinérgica e interferência de RNA (RNAi) em câncer de ovário resistente à platina.	O CNPPtCP/si(c-fos) é um sistema de nanopartículas poliméricas com pró-droga de Pt(IV) foto-ativável para entrega eficiente de si(c-fos) controlada por luz e PACT e RNAi sinérgicos em PROC que libera energia de oxidação N3 para que ocorra um escape endo/lisossomal. Em seguida ocorre a ativação do pró-fármaco Pt(IV), CNPPtCP/si(c-fos) dissocia-se com liberação simultânea de Pt(II) ativo e desempacotamento de si(c-fos).	No desenvolvimento in vitro CNPPtCP/si(c-fos) fotoativado pode reverter a resistência à droga e mostrar um efeito terapêutico sinérgico positivo contra células PROC. Em estudos in vivo mostra efetividade do CNPPtCP/si(c-fos) mostrando que atingir o local do tumor e realizar silenciamento gênico superior em um modelo de xenoinxerto PROC subcutâneo com alta segurança.

Sintetizar o CPCHC- 44 para ser utilizado como transportador de entrega de gene siRNA com o objetivo de combater o câncer de pâncreas.

Para essa pesquisa foi utilizado células de câncer pancreático como, PANC-1 e MiaPaCa-2, para assim ser avaliado a entrega de siRNA e a eficácia do silenciamento de Kras.

Para a síntese de CPCHC-44 foi utilizado um catalisador à base de níquel, ROCOP de CO<sub>2</sub>, CHO e VCHO. Foi adicionado o polímero precursor em seguida foi adicionado DEAET, DMPA e clorofórmio. Em seguida seguiu-se congelamento- bomba-descongelamento por três ciclos e, por fim, a solução foi exposta a luz UV ( $\lambda$  max = 365 nm).

O CPCHC-44 e o siRNA foram misturados e passaram por eletroforese.

As células pancreáticas PANC-1 e MiaPaCa-2, células HUVEC, NIH/3T3 foram cultivadas em meio de Eagle. Em seguida, siFAM com CPCHC-44 foi adicionada ao meio de cultura. Para garantir a eficácia da transfecção foi utilizado imagens confocais a laser e ensaios de citometria de fluxo.

Camundongos Balb receberam injeção siKras nu, CPCHC 44 nu, siRNA CPCHC 44-scramble e CPCHC 44/siKras durante três dias e para obter a curva de crescimento do tumor foi realizado medindo o diâmetro do tumor.

As células de câncer pancreático que foram tratadas com o CPCHC- 44/siRNA obteve a inibição da proliferação celular. Em relação ao modelo in vivo do modelo de tumor de xenoinxerto o grupo tratado com CPCHC/siKras teve o volume do tumor reduzido após a primeira administração demonstrando que o CPCHC-44 tem potencial como transportador de siRNA para terapia gênica de câncer pancreático.

ZHANG, Xinmeng et al., 2021.

---

XIA et al., 2021.	Preparar um carregador não viral, (nano partículas de selênio) direcionado ao tumor para a entrega de siSox2 para o tratamento do carcinoma hepatocelular.	Para essa pesquisa foi utilizado o RGDfC-SeNPs tendo sua finalidade para com o siSox2 determinada em gel de agarose. Foi também realizado o teste de liberação sensível ao pH tendo a concentração de siSox2 liberadas por intensidade de fluorescência. O ciclo celular e apoptose foram analisados por citômetro de fluxo. Foram utilizados também modelo in vivo xenoenxertados de tumor HepG2.	Complexos FeSiNTs-siSPAG5, a RGDfC-Se@siSox2 teve absorção celular significativa em células HepG2 e uma alta liberação de siSox2 em ambiente ácido permitindo uma entrega eficiente às células cancerígenas alvo. Foi inoculado aos camundongos foram administrados com 100 µL de solução salina, RGDfC-Se@siSox2 e RGDfC-Se@siNC (100 µg/kg de siRNA), tendo como resultado a inibição do crescimento do tumor em 21 dias.
LIU et al., 2021.	Utilizar nanotubos de crisotila dopados com Fe para a entrega de siRNA anticancerígeno direcionado ao oncogene SPAG5 que está envolvido na tumorigênese e progressão do câncer de bexiga.	Foram desenvolvidos FeSiNTs sintéticos Geoinspirados combinando cátions de Fe com um sítio octaédricos e morfologia tubular. A liberação de FeSiNTs/siRNA em meio e soro foi testada por eletroforese em gel. A captação celular de complexos FeSiNTs/fluoresceína (FAM)-siRNA foi realizada pelas células T24. Nessa pesquisa foi utilizado modelos de xenoenxerto de camundongos a aplicação da injeção foi determinada pelo sistema Xenogen IVIS Lumina.	A injeção de FeSiNTs-siSPAG5 resultou na supressão tumoral melhor tendo o tumor reduzido, enquanto a injeção de siSPAG5 livre causou inibição tumoral limitada.

Autor/ano	Objetivo	Método	Resultados
		<p>uma dose de siRNA de 20 µg por injeção, foram injetados intratumoralmente semanalmente por cinco vezes no total.</p>	
SREEDURGALAKSHMI et al., 2021	<p>Desenvolver um ARC eficaz e escalável por meio da tecnologia Gelatin-Antibody Delivery System (GADS) para contornar a resistência a drogas por meio de knockdown de gene. Demostardo por meio do knockdown eficaz de KRAS em NSCLC utilizando cetuximab, Gelatina cationizada e composto de siRNA.</p>	<p>O composto foi sintetizado pela ligação de grupos carboxila de gelatina catiônica a resíduos de ligação amida. O siRNA foi modificado em tiol e conjugado com a fração cGel por ligação tioéter. Essa pesquisa não teve como utilização modelos in vivo.</p>	<p>A tecnologia GADS mostra potencial promissor com a plataforma ARC, porém é necessário investigar o efeito de GADS em todo genoma.</p>
YU et al., 2017	<p>Desenvolver nanopartículas lipopoliméricas para maximizar a entrega de terapia antitumoral de RNAi em órgãos ricos em vasculatura e provar que a tumorigênese pode ser antagonizada por meio desse veículo de entrega.</p>	<p>Foram cultivadas células da linhagem GBM em meio Neurobasal. Para selecionar o duplex de siRNA para TFRNAi foi utilizado o Millipore Sigma que prevê as sequências que foi gerado 3 conjuntos siRNA1, siRNA2 e siRNA3. Para a transfecção foi utilizada os LPNPs que são veículos de embalagem e entrega protegendo a carga negativa do siRNA. Foi utilizado modelos de</p>	<p>A aplicação da injeção nos modelos de xenoinxertos GBM43 BTIC de camundongos que receberam tratamentos com siRNA-NP teve seu tumor reduzido significativamente, porém dependendo da dosagem e frequência de aplicação este efeito será de curta duração.</p>



Autor/ano	Objetivo	Método	Resultados
		xenoenxertos GBM43 BTIC de camundongos que receberam tratamentos com siRNA-NP para os TFs.	
TUTTOLOMONDO et al., 2017	Teve como objetivo projetar um sistema de entrega de siRNA não covalente derivado de DMBT1 potencialmente não imunogênico que é promissor para terapias in vivo.	Foi utilizado ensaio de mudança de mobilidade eletroforética para identificar peptídeos sintéticos do SRCR de DMBT1 para determinar a interação com o tdTomato 1 (siRNA). Para a indução do knockdown para o gene alvo em células MCF7 foi realizado a transfecção dos nanocomplexo SRCRP2-11-siRNA e SRCRP2-11-R-siRNA.	Nas células MCF7 foram observadas eficiência de Knockdown de Células MCF7-tdTomato Transfectadas com Complexos de SiRNA DMBT1-Peptide-tdTomato1.
LIN et al., 2017	Desenvolver nanocarreadores baseados em sulfoseleneto de cádmio/sulfeto de zinco (CdSSe/ZnS QDs) para <i>in vitro</i> entrega de siRNA para terapia gênica de glioblastoma visando o gene TERT.	Para essa pesquisa foram utilizadas duas linhagens celulares de glioblastoma diferentes U87 eU251. Houve a preparação do QD-PEI que foi misturada com o siRNA que foi adicionada ao meio das células que tiveram como volume final 2mL tendo sua eficácia observado depois de 4 horas.	A entrega de siRNA por nanoplex QD-PEI foi eficiente e a expressão gênica de TERT foi suprida inibindo a proliferação das células do glioblastoma.
LIUFU et al., 2020	Construir um vetor seguro,	Para iniciar a pesquisa foi preparado o	A utilidade do ultrassom com

Autor/ano	Objetivo	Método	Resultados
	eficiente, responsivo acústico e sensível à glutatona.	PSP@MB com PSP biotilado e o MB biotilado pelo método biotina-avidina. A transfecção foi feito usando ultrassom e PSP@MB, aonde o OCSCs foi colhido usando TrypLE™ Express e ressuspensos aonde foram misturados e incorporados na suspensão de OCSCs que foram expostos a parâmetros ultrassônicos com frequência 1MHz demonstrado a intensidade acústica e tempo de tratamento variados. Foi utilizado a citometria de fluxo para ensaio de transfecção e apoptose.	PSP@MB para entrega de genes para aumentar a apoptose de OCSCS in vitro mostrou efetividade promovendo a transfecção de gense e induzindo a apoptose tumoral. Também foi demonstrado que o PSP@MB acionado por ultrassom é sensível a GSH e facilita a entrega de genes.
CAI et al., 2021	Abordar uma entrega sistêmica de shRNA para autofagia regulada por lncRNA MALAT1 através da síntese in situ de NCs Au-shRNA bio-auto-montadas em células HCC/ou tecidos in vivo.	Os métodos utilizados para essa pesquisa foram técnicas de imagem biológica como confocal, microscopia eletrônica de transmissão e microscopia atômica que auxiliaram a entender a capacidade das NCs Au-shRNA fluorescentes com o objetivo de silenciar o gene MALAT1, mostrando sua eficácia através de imagens em tempo real.	As NCs-Au-shRNA1 automontadas obteve imagens de fluorescência não invasivas de animais vivos e detecção em tempo real de tumores direcionados.

Autor/ano	Objetivo	Método	Resultados
ZHENG, Ming-Xing et al., 2018	Desenvolver um vetor de expressão de shRNA que é acionado pelo promotor MUC16 para expressão gênica localizada no câncer de ovário.	Foi construído um plasmídeo gro- $\alpha$ shRNA acionados pelo promotor MUC16 que foram carregados em um copolímero de polietileno glicol-poli(etileno)imina combinado com o peptídeo FSH.	O vetor foi entregue em células de câncer de ovário que expressavam FSHR através de nanopartículas combinadas com peptídeos de FSH.
WU et al., 2019	Divulgar captação celular dependente do tempo e dose-dependente de NPs LDH, NPs BSA-LDH e NPs LCP pelas células EL4, entender os fatores no qual afeta a entrega do siRNA e demonstrar que o sistema funciona em uma célula T humana.	Verificar a capacidade de LDH e LCP NPs na entrega de siRNA de PD-1 murino em células T EL4 e qual se traz maior eficiência na entrega.	Ambos meios de entrega são eficazes e seguros para transporte de siRNA.
WOITOK et al., 2020	Investigar o potencial curativo da terapia genética de uma molécula chave em CLD, a quinase-2 N-terminal de c-Jun	Para esse experimento foram utilizadas células Hepa, nanopartículas lipídicas que foi misturado com o siRNA que foram testados nos camundongos NEMO.	A inibição de jnk2 mediada por siRNA em camundongos em progressão avançada de HCC bloqueada por câncer.
MOKHTARY et al. 2018	Descrever a aplicação de várias formulações de vesículas catiônicas compreendendo um lipídio catiônico um polímero catiônico, esqualeno e Tween 80, com a capacidade de transfecção de um grande plasmídeo contendo o	O nanocarreador vesicular catiônico tem como objetivo a entrega do vetor de expressão IncUCA1 nas células MCF-7. Para isso foi analisadas as características físico-químicas, citotoxicidade e eficiência de transfecção de vesículas catiônicas.	No final do estudo obteve como resultado uma possível utilização desse método para ser uma terapia gênica contra o câncer de mama.

Autor/ano	Objetivo	Método	Resultados
	shRNA UCA1 e também explor o papel antiapoptótico do UCA1 na linhagem celular de câncer de mama MCF-7.	Os tamanhos de partícula das vesículas foram determinados por dispersão dinâmica de luz e microscopia eletrônica de transmissão.	

De acordo com o trabalho desenvolvido do Cai et al. (2021), o método de entrega de shRNA por meio de imagem em tempo real e tratamento direcionado do tumor usando NCs Au-shRNA fluorescentes auto-montados e bio-responsivos possui como vantagem a alta eficiência de direcionamento e alta biocompatibilidade em sistemas precisos de bioimagem tumoral e entrega de drogas. Também a pesquisa desenvolvida por Zhang et al. (2018) apresentou eficácia na entrega do shRNA por meio de nanopartículas combinadas com peptídeos de FSH, entretanto, os autores ressaltam a necessidade de mais avaliações desse método em células de câncer primário de ovário ou células mesoteliais peritoneais.

Wu et al. (2019) verificaram que hidróxido duplo em camadas e fosfato de cálcio revestido de lipídio são transportadores seguros e eficazes para o siRNA em vários tipos de células, já o gene PD-1 tem maior silenciamento pela entrega do siRNA através do NPs de LCP do que as NPs LDH e BSA-LDH. Já Liu (2021) combinou cátions de Fe com um sítio octaédricos e uma morfologia tubular tendo como objetivo o encapsulamento, liberação sustentada e entrega intracelular de siRNAs. No final obteve dois resultados sendo FeSiNTs-siSPAG5 resultou na diminuição tumoral melhor, enquanto a injeção de siSPAG5 livre causou inibição tumoral limitada. O uso de injeção também não foi satisfatório na pesquisa realizada por Yu et al. (2017), de maneira que, assim como Liu (2021) não obteve em sua pesquisa um efeito prolongado, cuja duração do tratamento variou de acordo com a dosagem de aplicação.

Lu et al. (2019), utilizando os resultados do ensaio MTT, demonstraram que DMP/siBcl-xl e DMP/siMcl1 podem inibir a proliferação de células C26 e ter uma atividade anticancerígena nessas células. No modelo animal utilizando xenoenxerto C26 foi possível observar que a injeção intratumoral do complexo DMP/siRNA pode inibir de maneira eficiente o crescimento e peso dos tumores. Os efeitos colaterais in vivo do complexo DMP/siRNA foram examinados através da análise de HE. Não havendo alterações patológicas significativas no coração, fígado, baço, pulmão ou rim.

De acordo com a pesquisa de Ashaie MA et al. (2019) a transfecção de siRNAs CTNNA1 e CTNNB1 carregados com CA mostra uma redução na variabilidade na célula 4T1, a transfecção de siRNA TLN1 e siRNA ACTN1 também causou uma variabilidade em células MCF-7 e 4T1. Já a transfecção de siRNA de VCL causou variabilidade apenas na célula 4T1, em quanto a transfecção de siRNA de PXN causou redução em todas as linhagens de células. Todos os complexos trabalhados nessa pesquisa apresentaram uma diminuição no tamanho do tumor.

A pesquisa de Sreedurgalakshmi et al. (2021) teve grande êxito em sua entrega, porém o pesquisador teve como conclusão, ao final de seu trabalho, a necessidade de explorar todo o genoma com a plataforma GADS, garantindo desse modo sua eficácia. Também o trabalho desenvolvido por Woitok et al. (2020) por meio de terapia com *siRNA jnk2* demonstrou eficácia, entretanto, apenas quando aplicada em estágios avançados. Além disso, a nanoentrega de *siRNA jnk2* causou dano hepático exacerbado.

No estudo de Tuttolomondo et al. (2017) os complexos de *SiRNA DMBT1-Peptide-tomato1* transfectados obtiveram eficácia, porém o complexo de peptídeos-*siRNA* derivados de *DMBT1* apresentaram mais estabilidade do que o *siRNA* livre. Já o estudo realizado por Mokhtary et al. (2018), mesmo obtendo uma resposta positiva, evidenciou a necessidade de compreender melhor o mecanismo molecular do *UCA1*.

## **CONCLUSÃO**

Apesar de recente e de enfrentar alguns desafios quanto a forma de entrega das moléculas de RNAi nos tecidos, a utilização destes no diagnóstico e tratamento do câncer é extremamente promissora e vantajosa, pois além de permitir o silenciamento de genes defeituosos, os RNAi também são eficazes na redução da resistência às drogas utilizadas no combate à doença.

## REFERÊNCIAS

- ASHAIE, Maeirah Afzal et al. Targeting cell adhesion molecules via carbonate apatite-mediated delivery of specific siRNAs to breast cancer cells in vitro and in vivo. **Pharmaceutics**, v. 11, n. 7, p. 309, 2019.
- BORGES-OSÓRIO, Maria Regina L.; ROBINSON, Wanyce M. **Genética Humana**. Rio Grande do Sul: Grupo A, 2013.
- CAI, Weijuan et al. Intelligent Bio-Responsive Fluorescent Au–shRNA Complexes for Regulated Autophagy and Effective Cancer Bioimaging and Therapeutics. **Biosensors**, v. 11, n. 11, p. 425, 2021.
- DYKXHOORN, DM; PALISER, D.; LIEBERMAN, J. O tratamento silencioso: siRNAs como drogas de pequenas moléculas. **Terapia genética**, v. 13, n. 6, pág. 541-552, 2006.
- FRANÇA, Natália Regine de et al. Interferência por RNA: Uma nova alternativa para terapia nas doenças reumáticas. *Rev Bras Reumatol*, v. 50, p. 695-709, 2010.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Estimativa 2020 - Introdução | INCA - Instituto Nacional de Câncer. Rio de Janeiro: INCA, 2020.a
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. **Como surge o câncer?** | INCA - Instituto Nacional de Câncer. Rio de Janeiro: INCA, 2021.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. **Como se comportam as células cancerosas?** | INCA - Instituto Nacional de Câncer. Rio de Janeiro: INCA, 2020.b
- KIM, Young-Kook; KIM, Boseon; KIM, V. Narry. Re-evaluation of the roles of DROSHA, Exportin 5, and DICER in microRNA biogenesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 113, n. 13, p. E1881-E1889, 2016.
- KULKARNI, Jayesh A. et al. Sobre a formação e morfologia de nanopartículas lipídicas contendo lipídios catiônicos ionizáveis e siRNA. **ACS nano**, v. 12, n. 5, pág. 4787-4795, 2018.
- LODISH, Harvey. **Biología celular y molecular**. Ed. Médica Panamericana, 2005.
- LU, Yongping et al. Cationic micelle-based siRNA delivery for efficient colon cancer gene therapy. **Nanoscale research letters**, v. 14, n. 1, p. 1-9, 2019.
- Lin G , Chen CK , Yin F , Yang C , Tian J , Chen T , Xu G , He C , Lin MC , Wang J , Lu F , Wang X , Yong KT . Biodegradable nanoparticles as siRNA carriers for in vivo gene silencing and pancreatic cancer therapy. *J Mater Chem B*. 2017
- LIU, Jianye et al. Fe-doped chrysotile nanotubes containing siRNAs to silence SPAG5 to treat bladder cancer. **Journal of nanobiotechnology**, v. 19, n. 1, p. 1-20, 2021.
- LIUFU, Chun et al. Synergistic ultrasonic biophysical effect-responsive nanoparticles for enhanced gene delivery to ovarian cancer stem cells. **Drug delivery**, v. 27, n. 1, p. 1018-1033, 2020.
- MAIA, Maria de Mascena Diniz. **Conceitos básicos de epigenética para universitários**. Recife: EDUFRPE, 2020.

MANSOORI, Behzad; SHOTORBANI, Siamak Sandoghchian; BARADARAN, Behzad. RNA interference and its role in cancer therapy. **Advanced pharmaceutical bulletin**, v. 4, n. 4, p. 313, 2014.

MEDRADO, Leandro. **Carcinogênese - Desenvolvimento, Diagnóstico e Tratamento das Neoplasias**. São Paulo: Editora Saraiva, 2015.

MOKHTARY, Pardis et al. Cationic vesicles for efficient shRNA transfection in the MCF-7 breast cancer cell line. **International journal of nanomedicine**, v. 13, p. 7107, 2018.

PEREIRA, Cynthia Assunção Gomes et al. Influência dos Cânceres Gástrico e Hematológico na Qualidade de Vida e na Funcionalidade de Pacientes Oncológicos. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 68, n. 1, 2022.

PRADO, Eleandro do et al. Vivência de pessoas com câncer em estágio avançado ante a impossibilidade de cura: análise fenomenológica. **Escola Anna Nery**, v. 24, 2020.

REN, Xueling et al. Photoactivatable RNAi for cancer gene therapy triggered by near-infrared-irradiated single-walled carbon nanotubes. **International journal of nanomedicine**, v. 12, p. 7885, 2017.

SREEDURGALAKSHMI, K. et al. Cetuximab–siRNA Conjugate Linked Through Cationized Gelatin Knocks Down KRAS G12C Mutation in NSCLC Sensitizing the Cells Toward Gefitinib. **Technology in cancer research & treatment**, v. 20, p. 15330338211041453, 2021.

TUTTOLOMONDO, Martina et al. Human DMBT1-derived cell-penetrating peptides for intracellular siRNA delivery. **Molecular therapy-Nucleic acids**, v. 8, p. 264-276, 2017.

VALLE et al. HOXB7 siRNA Delivered by Hybrid Nanoparticles and the Co Therapy with Tamoxifen: Promising Strategy against Hormone Receptor-Positive Breast Cancer. **Mater. Proc**, v. 4, 69, 2021.

WU, Yanheng et al. Enhancing PD-1 gene silence in T lymphocytes by comparing the delivery performance of two inorganic nanoparticle platforms. **Nanomaterials**, v. 9, n. 2, p. 159, 2019.

WOITOK, Marius Maximilian et al. Lipid-encapsulated siRNA for hepatocyte-directed treatment of advanced liver disease. **Cell death & disease**, v. 11, n. 5, p. 1-14, 2020.

XIA, Yu et al. Tumor-targeted delivery of siRNA to silence Sox2 gene expression enhances therapeutic response in hepatocellular carcinoma. **Bioactive materials**, v. 6, n. 5, p. 1330-1340, 2021.

XIN, Yong et al. Nano-based delivery of RNAi in cancer therapy. **Molecular cancer**, v. 16, n. 1, p. 1-9, 2017.

YOON et al. RNA interference (RNAi)-based plasmonic nanomaterials for cancer diagnosis and therapy. **Journal of Controlled Release**, v. 342, p. 228–240, 2022.

YU D, Khan OF, Suvà ML, Dong B, Panek WK, Xiao T, Wu M, Han Y, Ahmed AU, Balyasnikova IV,

ZHANG HF, Sun C, Langer R, Anderson DG, Lesniak MS. Multiplexed RNAi therapy against brain tumor-initiating cells via lipopolymeric nanoparticle infusion delays glioblastoma progression. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 2017



ZHU et al. Silencing of mutant p53 by siRNA induces cell cycle arrest and apoptosis in human bladder cancer cells. **World Journal of Surgical Oncology**, v. 11, 22,2013

ZHANG Q, Kuang G, He S, Lu H, Cheng Y, Zhou D, Huang Y. Photoactivatable Prodrug-Backboned Polymeric Nanoparticles for Efficient Light-Controlled Gene Delivery and Synergistic Treatment of Platinum-Resistant Ovarian Cancer. **Nano Lett.** 2020.

ZHANG X, Lin ZI, Yang J, Liu GL, Hu Z, Huang H, Li X, Liu Q, Ma M, Xu Z, Xu G, Yong KT, Tsai WC, Tsai TH, Ko BT, Chen CK, Yang C. Carbon Dioxide-Derived Biodegradable and Cationic Polycarbonates as a New siRNA Carrier for Gene Therapy in Pancreatic Cancer. **Nanomaterials (Basel)**. 2021

ZHENG M, Yang Z, Chen S, Wu H, Liu Y, Wright A, Lu JW, Xia X, Lee A, Zhang J, Yin H, Wang Y, Ruan W, Liang XJ. Bioreducible Zinc(II)-Dipicolylamine Functionalized Hyaluronic Acid Mediates Safe siRNA Delivery and Effective Glioblastoma RNAi Therapy. **ACS Appl Bio Mater.** 2019

## 4 ANEXO A

### Diretrizes para Autores

1. Utilizar o editor de texto Word, em formato A4 (21 x 29,7 cm). O texto deve ser formatado em fonte *Times New Roman*, tamanho 12, espaçamento entre linhas 1,5 e justificado. O artigo deve ser inserido no Template da revista Terra & Cultura para submissão.
2. O texto deve conter até 25 páginas.
3. Resumo é elemento obrigatório, não ultrapassar 250 palavras, escrito em português e deve conter os seguintes itens: introdução, objetivo, metodologia, resultados e considerações finais.
4. Indicar até cinco palavras-chave em português. As palavras-chave devem constar logo após o resumo separadas por ponto final ( . ).
5. Ilustrações como quadros, tabelas, fotografias e gráficos (incluir se estritamente necessários), devem ser indicados no texto, com seu número de ordem e o mais próximo do texto onde a imagem foi citada e indicar a fonte.
6. As notas explicativas devem vir no rodapé do texto e devem ser indicadas com número sobrescrito, imediatamente após a frase à qual fez menção;
7. Os agradecimentos, se houver, devem figurar após o texto.
8. Anexos/apêndices devem ser utilizados quando estritamente necessários.
9. As citações no texto devem seguir a norma NBR 10520/2002 da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), utilizando-se o sistema autor-data. As referências bibliográficas (NBR 6023/2018) devem aparecer em lista única no final do artigo e em ordem alfabética, sendo de inteira responsabilidade dos autores a indicação e adequação das referências aos trabalhos consultados.
10. É de responsabilidade dos autores a revisão dos artigos de acordo com a norma culta da língua portuguesa.