

Novas Tecnologias na Genética Humana:

Avanços e Impactos para a Saúde

Maria Celeste Emerick
Karla Bernardo Mattoso Montenegro
Wim Degrave

2007

Todos os direitos reservados. É permitida a reprodução parcial desta obra desde que citada a fonte e que não seja para venda ou qualquer fim comercial.
Tiragem 1ª edição: 2.100 exemplares

Distribuição e informações:

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ

Projeto Ghente/GESTEC-NIT/Vice-Presidência de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico
Av. Brasil, 4365 – Castelo Mourisco – Salas. 01,03 e 06 – Manguinhos
Rio de Janeiro – RJ – CEP: 21040-360 – Tel: (21) 38851721/1731/163-3
Email: ghente@ghente.org - Home page: <http://www.ghente.org>
Administrador e Webmaster Projeto Ghente – Leonardo Silva Leite

Novas Tecnologias na Genética Humana: Avanços e Impactos para a Saúde

Organização: Maria Celeste Emerick, Karla Bernardo Mattoso Montenegro e Wim Degrave
Edição: Karla Bernardo Mattoso Montenegro
Colaboração: Leonardo Silva Leite e Marcos Lins Langenbach
Projeto Gráfico: Capa: Adriana Montenegro. Desenho e pintura, com apropriação de “O homem vitruviano”, Leonardo da Vinci.
Diagramação: Antonielle Nunes e Impressão: Edil Artes Gráficas

Seminário: Células-Tronco: Possibilidades, riscos e limites no campo das terapias no Brasil (Maio de 2006)

Realização: Projeto Ghente/GESTEC-NIT/FIOCRUZ

Apoio: DECIT e CESUPA

Comissão Organizadora: Eliane Moreira (CESUPA), Karla Bernardo M. Montenegro (FIOCRUZ), Leonardo Leite (FIOCRUZ), Marlene Braz (IFF), Maria Celeste Emerick (FIOCRUZ), Maria Helena Lino (FIOCRUZ), Wim Degrave (FIOCRUZ)

Seminário: Novas Tecnologias da Genética Humana: Avanços e Impactos para Saúde (Março de 2007)

Realização: Projeto Ghente/GESTEC-NIT/FIOCRUZ

Apoio: DECIT e OPAS

Comissão Organizadora: Karla Bernardo M. Montenegro (FIOCRUZ), Leonardo Leite (FIOCRUZ), Maria Celeste Emerick (FIOCRUZ), Silvio Valle (FIOCRUZ), Wim Degrave (FIOCRUZ)

**Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Ciências Biomédicas / ICICT / FIOCRUZ - RJ**

N936 Novas tecnologias na genética humana : avanços e impactos para a saúde / organizadores Maria Celeste Emerick, Karla Bernardo Mattoso Montenegro [e] Wim Degrave. – Rio de Janeiro : [GESTEC-Nit], 2007. 252 p.

Projeto Ghente/GESTEC-Nit.

1. Genoma humano. 2. Células-Tronco. 3. Farmacogenética. 4. Bioética. 5. Nanobiotecnologia. 6. Terapia gênica. 7. Biotecnologia – Patentes. I. Emerick, Maria Celeste. II. Montenegro, Karla Bernardo Mattoso. III. Degrave, Wim.

CDD: 611.0181663

Balanço da Participação Brasileira nas pesquisas em Nano(bio)tecnologia

Nelson Eduardo Durán Caballero

Gestor do Núcleo de Ciências Ambientais da Universidade de Mogi das Cruzes e Professor Titular do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas

A Rede de Nanobiotecnologia do CNPq/MCT no Brasil surgiu em 2001. Mostrarei aqui o trabalho desenvolvido até agora na primeira parte deste texto. Na segunda, mostrarei algumas novidades internacionais da nanobiotecnologia.

A Rede de Nanobiotecnologia está formada por três subáreas. A primeira está relacionada com a liberação controlada de fármacos; a segunda tem a ver com nanosensores; e terceira enfoca nanobiomagnetismo.

É uma rede que envolve 19 universidades distribuídas no Brasil, desde Pernambuco até Rio Grande do Sul. Esta rede foi iniciada com 92 pesquisadores, e após o ano 2006, contávamos com 82 pesquisadores ainda com interesse de continuar nas linhas programadas.

Os objetivos gerais dessa rede eram: a) desenvolvimento de novos métodos de preparação de fármacos encapsulados em nanopartículas: tratamento de câncer, tuberculose, leishmaniose e esquistosomose; b) síntese e caracterização de fluidos magnéticos com aplicação em diagnóstico e terapias em câncer; c) métodos instrumentais em materiais nanoestruturados com finalidade de caracterização de nanoestruturas e aplicação em diagnósticos.

A nanotecnologia, mais ainda a nanobiotecnologia, é multidisciplinar. As quatro áreas mais importantes dentro da nanobiotecnologia são: medicina, alimentos e indústria agrícola, a farmacologia e a biologia com todas as metodologias de conhecimento que estão inseridos nessa ciência (Fig.1, na próxima página).

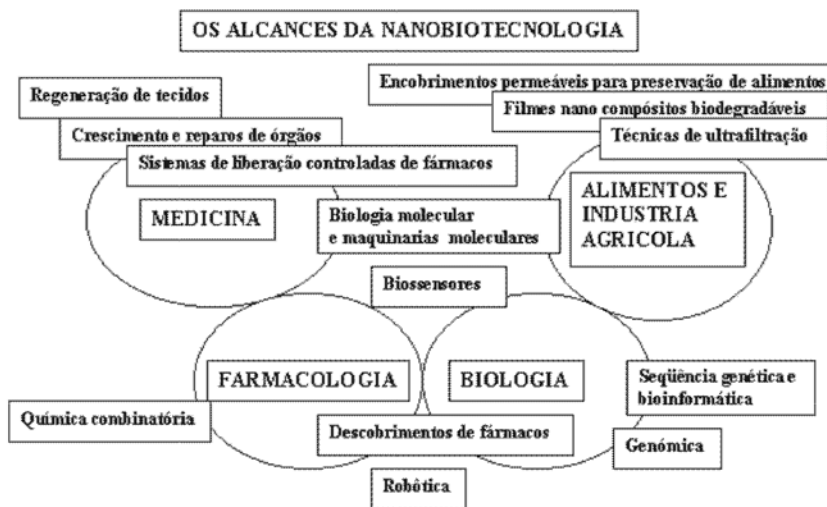


Figura 1: Os alcances da nanobiotecnologia

Um exemplo da sub-área é a liberação controlada de fármacos e vacinas coordenada pela Dr^a. Silvia Gutierrez, da Universidade de Porto Alegre. A estratégia seguida neste caso é a produção, caracterização e escalonamento de novos carregadores de princípios ativos. Este processo contempla desde o nível de laboratório, semi-industrial e piloto. Dentro destes aspectos, são estudados sua liberação, mecanismos de ação e distribuição no organismo destes novos materiais, como também seus efeitos biológicos. Neste aspecto se tem preocupação com os efeitos deletérios ou de toxicidade sobre os alvos estudados.

Um excelente exemplo dos efeitos biológicos é a aplicação da nanobiotecnologia em vacinas. No caso de infecção por parasitas, como em leishmaniose amazônica foi usada em camundongos infectados uma vacina protéica em forma oral (LaAg) (Profa. Bartira Rossi-Bergmann da UFRJ) diminuindo significativamente a extensão de lesões no camundongo até um período de 25 dias, porém logo atingindo a mesma velocidade de infecção que o controle sem vacina. Entretanto, uma vez que a vacina foi encapsulada em um polímero biodegradável (PLGA) esta infecção foi inibida até o fim da experiência (40 dias). Isto prova que uma vez que a vacina esteja encapsulada, esta fica protegida do meio ambiente (enzimas) atingindo um maior tempo de circulação e de ação ativa sobre o parasita. Quando estudado o efeito deste encapsulamento nos aspectos de imunogenicidade, um aumento significativo de interferon-gama (IFN- γ) foi induzido, comparando LaAg livre (40 ng/mL) para o encapsulado (105 ng/mL).

No caso da Sub-Rede de Nanobiomagnetismo, coordenada pelo Prof. Dr. Paulo César de Moraes em Brasília, foram desenvolvidas nanopartículas magnéticas que são rapidamente acumuladas em tecidos cancerosos. Uma célula cancerosa na

qual estão localizados esses materiais pode facilmente ser detectada por um campo magnético. Os pesquisadores podem detectar pequeníssimas metástases através de um campo magnético. Através de uma ressonância magnética, por exemplo, esse material pode ser localizado facilmente. Uma vez localizado, podem ser tratados fazendo com que sofram vibrações devido ao campo magnético aplicado (magnetohipertermia). Um aparelho que foi patenteado em nossa rede permite estas aplicações. Coloca-se na região onde está localizada essa metástase e se aplica um campo magnético produzindo uma variação de temperatura de 4 a 5 graus eliminando a célula sem fazer um processo invasivo no paciente.

Estes materiais magnéticos também permitem transporte de fármacos que sejam de interesse, para um alvo localizado. Um bom exemplo deste material é a associação de doxorubicina que é uma droga anti-câncer. Pode-se fixar a droga dentro ou na superfície dessa partícula e orientá-la a um alvo definido no paciente.

Ao injetar este material, ele será localizado nas regiões que são mais sensíveis e que têm permeabilidade de membrana mais adequada para este material. Isto permite a localização do tumor ou das células cancerosas, possibilitando o tratamento com cura localizada.

A micrografia deste material mostra que não há oclusão, inclusive na artéria, e como são nanométricos, não interferem no caminho das artérias.

Sobre a outra Sub-Rede de Nanossensores, coordenada pelo Prof. Dr. Luis H. C. Matosso, esta utiliza novos materiais e novos equipamentos para diagnose. A EMBRAPA, junto com esta sub-rede, desenvolveu uma linha eletrônica; essa linha eletrônica tem dispositivos específicos pelos quais se pode detectar componentes químicos diferentes em um tempo muito rápido, nanosegundos, e em misturas bastante complexas.

Por esse método posso qualificar um vinho ou um café ou fármacos em poucos segundos, colocando os eletrodos com componentes nanométricos definidos para essa função. Isso significa que posso fazer também com drogas ou em mistura de fármacos.

No desenvolvimento de novos fármacos na indústria farmacêutica, vários aspectos devem ser considerados. Há uma série de problemas no desenvolvimento de drogas: solubilidade baixa, danos ao tecido, liberação de fármaco numa região que não corresponde etc. Todos esses problemas com os fármacos, sendo colocados livremente na corrente sanguínea podem ser resolvidos pela nanobiotecnologia. Como?

Encapsulando esses materiais, mudando os parâmetros de solubilidade, falta de seletividade, etc. como indicado na Tabela 1 com sistemas de liberação controlada ou sustentada (SLC). Uma droga anti-câncer, por exemplo, ataca a célula cancerosa e ataca as células normais. Essa é uma das funções e um dos objetivos mais importantes da nanobiotecnologia: fabricar um novo material alvo dirigido, ou seja, que não ataca as células normais e sim as que estão com câncer.

Na página seguinte, veremos uma tabela que sintetiza os principais problemas encontrados em fármacos e suas implicações terapêuticas.

TABELA 1. PROPRIEDADES NÃO IDEAIS DE FÁRMACOS E DE SUAS IMPLICAÇÕES TERAPÊUTICAS

PROBLEMAS	IMPLICAÇÃO	EFEITOS DOS SLC
Solubilidade baixa	Uma formulação adequada é difícil de atingir com moléculas hidrofóbicas já que precipitam em água.	SLC permite ambos hidrofóbico como hidrofílico melhorando a solubilidade
Danos nos tecidos	Derramamento inadvertido de fármacos citotóxicos (p.ex. doxorubicina).	Liberação regulada por SLC não permite esse problema.
Rápida quebra de fármaco <i>in vivo</i>	Perda da atividade (p.ex. captotecinas em pH fisiológico).	SLC protege a fármaco de degradação prematura e baixas concentrações do fármaco podem ser usadas.
Farmacocinética desfavorável	Fármaco eliminado rapidamente pelos rins e deve ser adicionado altas concentrações.	SLD pode modificar substancialmente a farmacocinética.
Biodistribuição	Distribuição sistêmica e podem afetar tecidos normais (p.ex. toxicidade cardíaca de doxorubicina).	SLC abaixa os vol. de distribuição diminuindo efeitos secundários.
Falta de seletividade por tecidos alvos normais	Distribuição de fármacos em tecidos leva efeitos secundários restringindo a dosagem alta.	SLC podem aumentar a concentração do fármaco em tecidos tumorais pelo efeito permeabilidade aumentado e retenção (EPR effect).

Uma das qualidades do sistema de liberação controlada é a diminuição das doses e a diminuição da toxicidade. Isto se atinge através de liberação controlada de um fármaco permitindo somente os níveis terapêuticos do fármaco e não em níveis tóxicos ou sub-terapêuticos.

O que faz este tipo de material? O que faz uma partícula encapsuladora e como libera controladamente esses fármacos, mantendo a liberação nessa forma sustentada na faixa terapêutica?

Quando falamos sobre encapsulamento, estamos falando em alguns dos casos de nanoesferas ou nanocápsulas. As nanoesferas são materiais rígidos como uma bola de tênis, dura e compacta. A outra, uma nanocápsula, é oca (Figura 2).

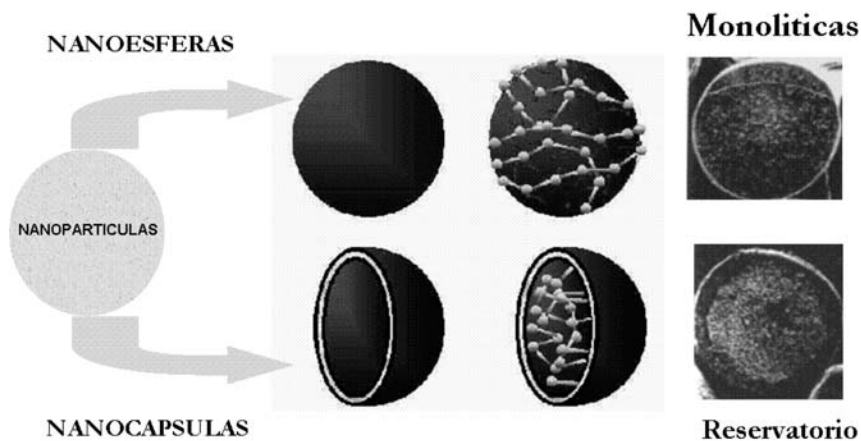


Figura 2: Estrutura de nanopartículas.

Cada uma destas partículas podem ser preparadas por metodologias diferentes.

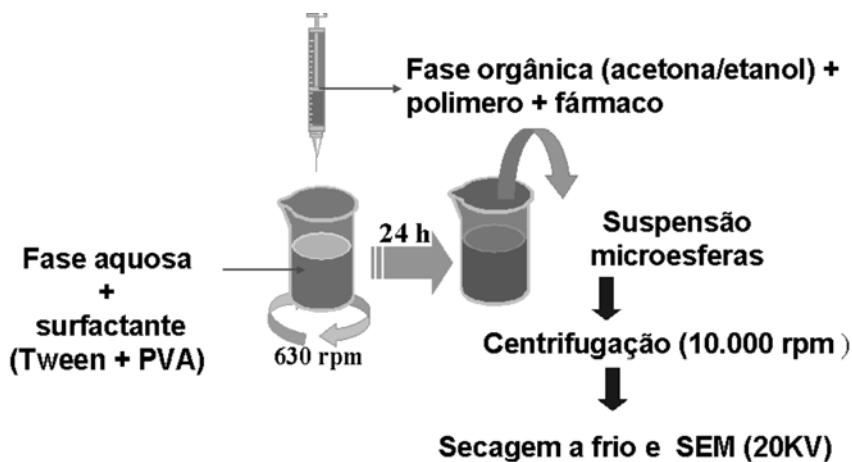


Figura 3: Método de emulsão e evaporação de solvente para microsferas

A Figura 3 mostra um método bastante simples de preparação de microsferas. Existem vários métodos, entretanto o que mais se utiliza é evaporação do solvente. Pode-se objetivar micro ou nano esferas, dependendo de alguns fatores de agitação e quais são os surfactantes utilizados.

Quando se fala em nanotecnologia, argumenta-se que ela é o futuro, etc. O que é ciência e o que é ficção? Lemos muita coisa fantasiosa, mas de fato, nos momentos atuais, parece ser não ficção o que se mostra pelas grandes revisões a respeito de novos tratamentos para câncer e outras doenças. Quais são os desafios que tem a nanotecnologia em câncer, por exemplo? (Figura 4).

É CIÊNCIA OU FICÇÃO?



Figura 4: Alguns fatos e a realidade da nanobiotecnologia

A Rede de Nanobiotecnologia também preparou um livro de princípios da nanotecnologia e que mostra alguns exemplos desta área e sua relevância atual na medicina, assim como os avanços em outras áreas, mostrando inovação em nanobiomedicina.

A necessidade de medicina inovadora é clara no contexto desta nova tecnologia. Por que isto é tão importante atualmente? Uma pessoa morre de câncer a cada quatro segundos, onze segundos de AIDS, 36 segundos de diabetes, 86 segundos de Alzheimer. Na Inglaterra, por exemplo, uma farmácia tem quatro pacientes com esclerose múltipla. Uma em cada dez também sofre de câncer. Essas são informações da Organização Mundial de Saúde. É claro que isto é um grande problema. Nanobiotecnologia e nanomedicina neste caso são aplicáveis para esse tipo de doença.

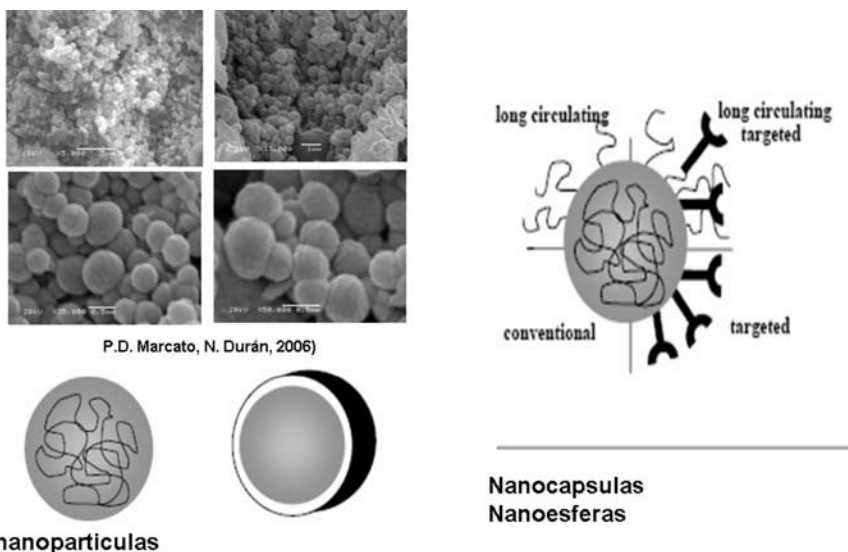
E o que é nanomedicina? Esta sub-disciplina foi definida como a ciência e tecnologia de sistemas complexos na escala nanométrica, que consiste ao menos de dois componentes, um dos quais é o ingrediente ativo. Neste campo, o conceito de nanoescala foi considerado na faixa de 1 a 1000 nm (R. Duncan, ESF Forward Look on Nanomedicine 2005).

Quais são as tecnologias? São as mais variadas tecnologias que estão envolvidas em nanobiotecnologia, desde química supramolecular, auto organização de carregadores de fármacos e sistemas de liberação de genes; nanopartículas e nano-cápsulas; tecnologias de produção e modificação de anticorpos; polímeros e fár-

macos conjugados, polímero- proteína e anticorpos, conjugados; nano-precipitação Omo em nanocristais; tecnologias de emulsificação; polimerização in situ; engenharia de tecidos e reparo; tecnologias de dendrímeros; impressão molecular etc.

Já há uma série de tecnologias envolvidas, tanto na química como na física. Por exemplo, vetores que superam barreiras biológicas (para liberação efetiva de genes e proteínas; novas rotas de administração oral, pulmonar, pele...), alvos para câncer, liberação para o cérebro, combinação do potencial de alvos com anticorpos com tecnologia de lipossomos e nanopartículas.

As nanopartículas são apresentadas na Figura 5. Estas partículas podem ser utilizadas aproveitando as propriedades do polímero envolvido. Dependendo de qual seja o polímero e a carga na superfície, dará propriedades diferentes. Podem ser feitas também modificações na superfície para orientar essa partícula a um alvo definido.



I. Brigger, C. Dubernet, P. Couvreur. Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis *Adv. Drug Del. Rev.* 54, 631 (2002).

Figura 5: Nanopartículas.

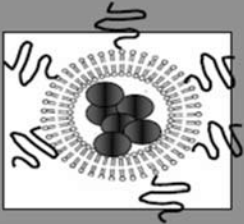
Dois produtos, já comerciais, mostram a qualidade das nanopartículas: o EN-DOREM[®] - Agente para imagem baseado em óxido de ferro que se utiliza em micrografia para fazer contraste e ABRAXAME[®] - Agente anticâncer alvo-dirigido. O Paclitaxel é uma formulação do Taxol em nanopartículas de albumina. As nanopartículas de albumina foram usadas porque são essencialmente biológicas e não tem problema de toxicidade. Logo, é um polímero natural e toda essa toxicidade que o Taxol tem é diminuída completamente quando é aplicado.

Muitos nanomedicamentos estão agora em uso comum em clínica ou em desenvolvimento clínico (R. Duncan. *Nanotechnology- impact on healthcare and regulations*, 2006).

Há também alguns produtos lipossômicos:

FORMULAÇÕES LIPOSSOMAIS EM USO CLÍNICO E DESENVOLVIMENTO

Cancer		
Doxil [®] /Caelyx [®]	Market	
Daunoxome [®]	Market	
Myocet [®]	Market	
Liposomal-MTO	Phase I	
Aroplatin	Phase I/II	
ATRA-IV	Phase I/II	
NX211	Phase I/II	
Other		
Ambisome [®]	Market	Fungal infections - Leishmania
Amphotec [®]	Market	Fungal infections



V.P. Torchilin, Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers. *Nature Rev, Drug Discov.* 4, 145 (2005).

Figura 6: Formulações lipossomais

Nanobiotecnologia e a nanomedicina, em geral, estão dirigidas a doenças que são terminais. Serão vistas raríssimas aplicações para outro tipo já aprovado pela FDA. Na figura 6, o câncer tem sete produtos diferentes, todos eles lipossomos, três deles já estão em fase de mercado. Outro está nas fases I e II FDA e tem um processo de análise diferente do que os outros fármacos com doenças terminais ou sem cura. São chamados *fast track*. Este sistema é aplicado para fármacos ainda em fases preliminares mas com baixa toxicidade. Se aprovados pela FDA, estes serão aplicados para uma doença específica.

O Ambisome e Amphotec são os mais conhecidos no Brasil para tratamento de leishmaniose, é lipossomo de anfotericina B. Ele melhorou as condições enormemente do funcionamento desse composto.

Também existem produtos baseados em anticorpos monoclonais. São vários para câncer de mama, cólon, leucemia, linfoma de Hodgkin etc. (T.M. Allen, Ligand-targeted therapeutics in anticancer therapy, *Nature Rev. Drug Discov.* 2, 750 (2002)).

Existem nanopartículas de polímeros biodegradáveis que estão sendo estudadas em fase I e II. Quase todas para câncer ou algumas doenças como Alzheimer ou outras desse tipo (P.D. Marcató e N. Durán, *J. Nanosci. Nanotechnol.* submitted (2007)).

Existem polímeros terapêuticos também. Estão sendo estudados, mas por enquanto não posso relatar nada interessante, apenas que estes polímeros não são tóxicos, já foram estudados e são associados, por exemplo, a proteínas, a DNA, etc. Alguns destes produtos foram citados por alguns autores (R. Duncan, The Dawning era of polymer therapeutics. *Nature Rev. Drug Discov.* 2, 347 (2003)).

O que há de concreto? Os polímeros terapêuticos com fármacos têm vários compostos, alguns deles também no mercado. Agora, quais são as doenças alvo:

esclerose múltipla, degeneração macular, síndrome de fadiga crônica, AIDS. Então pode ser notado que a aprovação desses fármacos pela FDA não é para qualquer doença, são apenas para doenças graves ou terminais (Figura 7).

POLÍMEROS TERAPÊUTICOS COMO FÁRMACOS MACROMOLECULARES DE TAMANHO NANO

Copaxone® Renagel® Emmelle®	market market market	multiple sclerosis end-stage renal failure HIV/AIDS prevention	oral topical
Macugen® (PEG-aptamer)	market	Age-related macular degeneration	topical
Ampligen®	Phase III	chronic fatigue syndrome	
Vivagel™ (Dendrimer) 	Phase I	HIV/AIDS prevention	topical




R. Duncan. Nanotechnology- Impact on Healthcare and Regulations, 2006.

Figura 7: Polímeros terapêuticos.

Recentemente foi apresentado um resumo sobre compostos com atividades importantes (M. Ferrari e G. Dawing, Biodrugs 19, 203 (2005)). Nesse resumo aparece um composto nas últimas notícias sobre nanomedicina, que é o VivaGel, de uso tópico para prevenir AIDS, em fase I. Isso é interessante já que é um dendrímero, composto ramificado.

Saiu uma notícia em fevereiro de 2006 sobre o mecanismo de ação (*Chemical Engineering Progress*; Feb 2006; 102, 2; ABI/INFORM Trade & Industry, pg. 35). Em resumo, o que ele faz? O HIV, quando infecta a célula, tem uma proteína na superfície que reconhece as células T. O que faz o dendrímero? Ele se encaixa na proteína de superfície do HIV, gp120, e não deixa que o HIV infecte. Segundo a publicação, os resultados são muito promissores. Caminhou muito rápido na FDA, estando já na fase I e já aprovada a fase II.

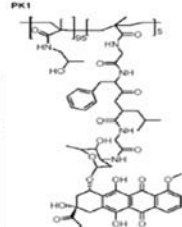
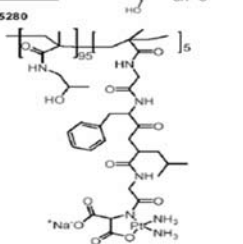
Existem alguns complexos de polímero com proteína em estudos (Fig.8). Todas para tratar câncer. Entretanto, já começam a surgir alguns compostos novos para hepatite C já que existem pouquíssimos remédios para esta doença. Os únicos remédios comerciais são o Interferon e a Ribavirina, entretanto, estes remédios somente funcionam por um ano e logo mostram resistência. No Brasil há registro de quatro milhões de pessoas com hepatite. No entanto, deve ter, segundo as previsões do OMS umas três vezes mais não detectados. Então, hepatite C é uma doença grave, mas felizmente estão surgindo alguns materiais como os peguilados como o PEG-INTRON e PEGASYS. Também existem outros para câncer, artrite reumde, etc. que representam outro problema sério (Fig. 8).

Adagen® 	market	SCID syndrome	injection
Zinostatin Stimaler® (SMANCS)	market	cancer	local injection
Oncaspar®	market	cancer	injection
PEG-INTRON™	market	hepatitis C	injection
PEGASYS® 	market	hepatitis C	injection
PEGvisomant®	market	acromegaly	injection
Neulasta™	market	cancer	injection
CD870 	Phase III	rheumatoid arthritis	injection

J.M. Harris, R.B. Chess, Effect of pegylation on pharmaceuticals. *Nature Rev. Drug Discov.* 2, 214 (2003)

Figura 8: Polímero-Proteína Conjugadas

A Fig.9 mostra alguns polímeros fármacos conjugados para o tratamento de câncer. Os polímeros conjugados a um anti-câncer estão em fases 2 e 3. Alguns já estão na fase 3, ou que permite quase sua comercialização, o que depende de algumas exigências da FDA.

PK1, FCE28068	Phase II	cancer	- 1994	
PK2, FCE28069	Phase I/II	cancer		
PNU166945	Phase I	cancer	PNU16614	
AP5280	Phase I/II	cancer		
AP5346	Phase I/II	cancer		
XYOTAX cancer	Phase III	NDA to be filed	In lung	
CT-2106	Phase I/II	cancer	Pr	
NK911	Phase I/II	cancer	cancer	

R. Duncan, Polymer-drug conjugates. In *Handbook of Anticancer Drug Development* (D.Budman, H. Calvert and E. Rowinsky (Eds.), pp. 239-260 (2003)

Figura 9: Polímero-Fármaco Conjugados

Quais são os itens específicos que governam o índice terapêutico de fármacos de tamanho nano? Isso muda totalmente o conceito que se tem de fármacos cor-

rentes. Quando se utiliza lipossomos, imunoconjugados, polímeros terapêuticos e nanopartículas, estes itens devem ser considerados:

A) biodistribuição (todo o organismo ao nível celular); B) imunogenicidade (produção de IgG/IgM; indução de citocinas); C) destinos metabólicos e D) persistência de sistemas não biodegradáveis (possibilidade de toxicidade por estocagem no lisossomos).

Impacto em nanobiotecnologia

A toxicidade dos nanofármacos deve ser sempre considerada. Essa é outra preocupação que temos como rede. Na fabricação deve ser considerado o limite de exposição de funcionários. Neste aspecto devemos considerar os perigos que nossos alunos que trabalham com nanopartículas estão correndo. Eles devem ter ciência do que estão trabalhando e saber o que pode ocorrer em caso de erro de manipulação. O pesquisador deve ser responsável frente a qualquer mau uso ou má manipulação desses materiais.

O Impacto ambiental em geral deve ser conhecido. Como agem estas novas partículas no meio ambiente? Os itens de segurança podem ser apresentados através destas perguntas: O que acontece quando esse material é excretado?. Para onde vai, o que se faz, o que acontece com ele?

A segurança para uso humano dependerá da rota de administração; da dose, frequências, liberação de fármacos relacionados à toxicidade de carga total do fármaco. Essa é uma preocupação já presente, referente à toxicologia experimental na nanobiotecnologia (R. Duncan et al. Human and Experimental Toxicology. 17, 93-104 (1998)).

Condições de vias metabólicas (Fig.10): Sempre se deve ter a preocupação de que a partícula, quando liberada, seu ativo ficará livre, assim como o polímero também. Logo se deve ter a preocupação com acumulação ou eliminação e degradação. Isso é muito importante.

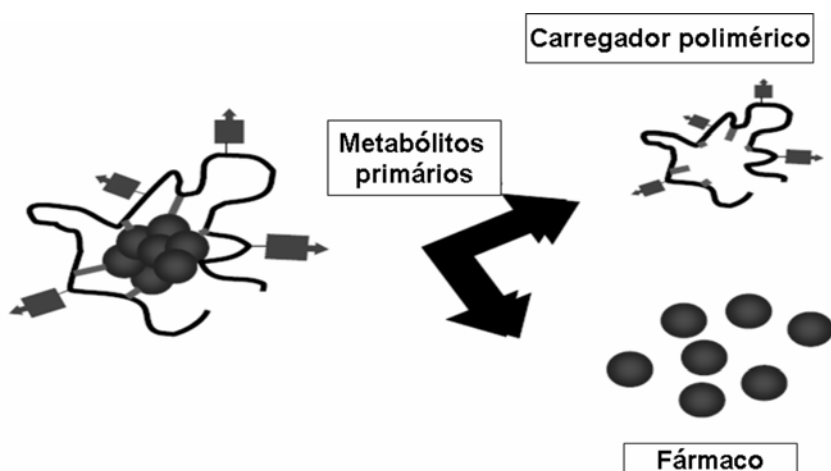


Figura 10: Preocupação das vias metabólicas

A biocompatibilidade é importante nesses materiais (Fig.11). Efeitos adversos ou efeitos positivos devem ser analisados. A toxicologia é fundamental em todos esses estudos. Os pesquisadores estão obrigados a fazer esse tipo de estudos. Não deve permitir simplesmente o uso desses materiais em seres humanos se não tiver toda a informação do nível toxicológico.

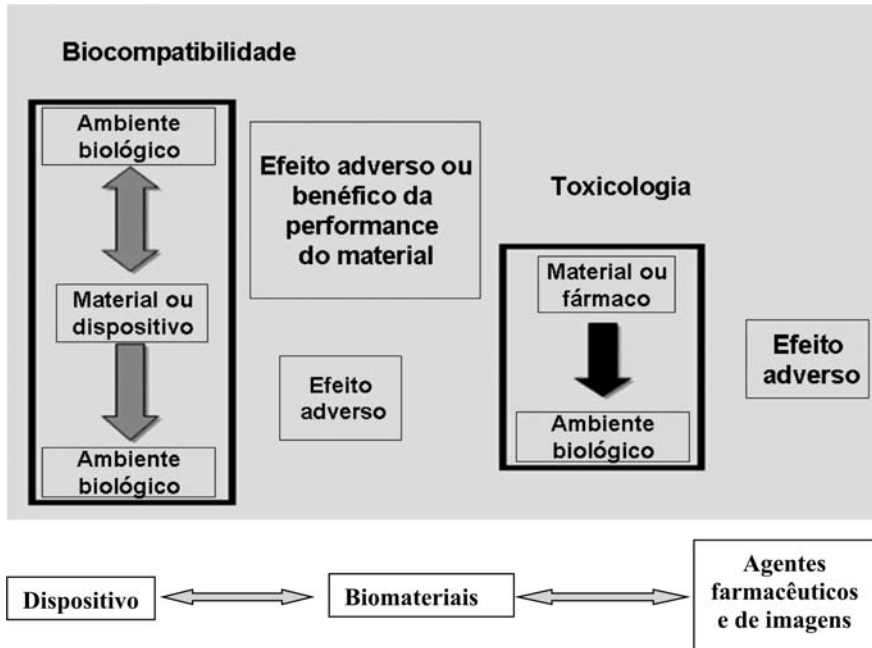


Figura 11: Biocompatibilidade

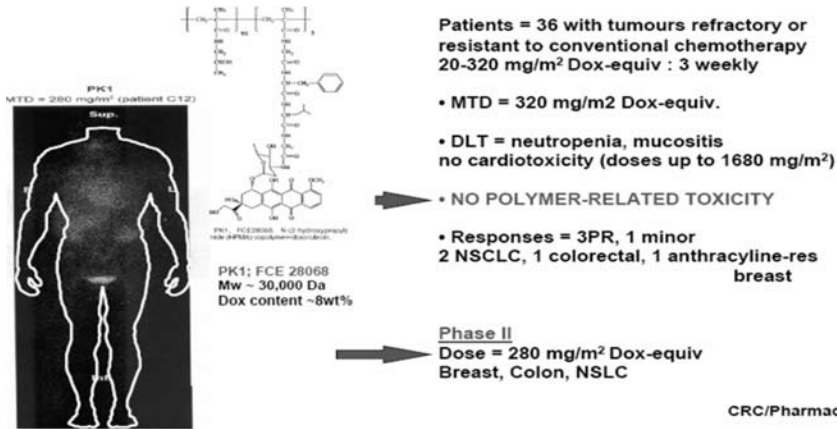
Há preocupações com o risco para a saúde como alteração de genes em células hepáticas ou destruição de células lipídicas que são muito sensíveis à nanopartículas. Há liberação gradual do fármaco, e preocupação em como se está translocando, onde se acumula no organismo, entre outras.

A preocupação central é: como o corpo lida com esses nanomateriais? Essa é uma resposta que ainda não se tem em muitos casos. Logo, temos que ter uma grande precaução com esses materiais.

Há na literatura um estudo de caso de como se estudam esses materiais. A Fig. 11 mostra um estudo clínico em fase I. O material em estudo é um polímero com uma droga anti-câncer no qual se faz estudos de concentração tóxica mínima, máxima etc., e se o polímero é ou não tóxico. Em função desse estudo aqui, pode-se saber ao final exatamente onde se pode aplicar com possibilidade de maior efetividade. Na fase 2 já será com uma dose fixa, conhecida, e o alvo mais definido. Neste caso ficou claro que os alvos seriam mama, cólon e pulmão.

Phase I Results with PK1; FCE28068

Vasey et al. Clin Cancer Res. 5 83-94 (1999)



MTD: clinically used dose and schedule; *DLT: dose limiting toxicity;

Doxorubicin: dox. NSCLC: Non-small cell lung cancer.

Figura 11: Exemplo de estudo de novo nanofármaco.

Um exemplo interessante de como se trabalha essas partículas modificadas (Lewin et al. Nat Biotechnol. 18, 410 (2000)) está representada por uma partícula de ferro magnética (no núcleo), que tem uma superfície orgânica, um biopolímero, na qual estão colocados vários grupos funcionais na superfície. Uma delas é a sequência TAT. Essa sequência foi tirada do HIV, e é a parte que ajuda a infecção do sistema celular. Ou seja, é o elo pelo qual o HIV penetra na célula. Fez-se essa sequência proteica associada a um marcador fluorescente de tal maneira que se pôde monitorar a localização da partícula por fluorescência (Fig.12).

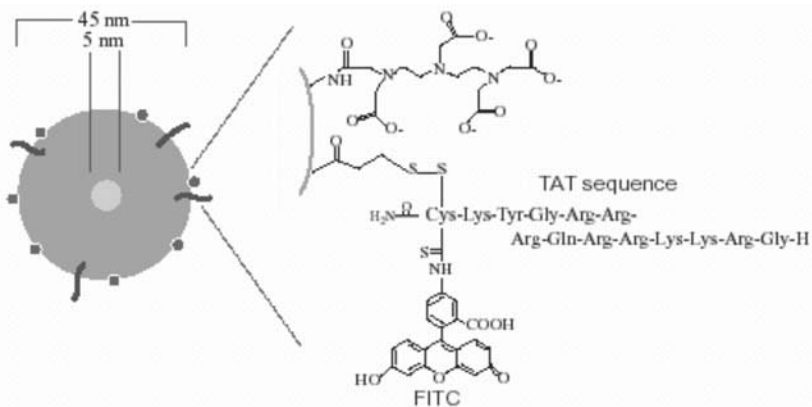
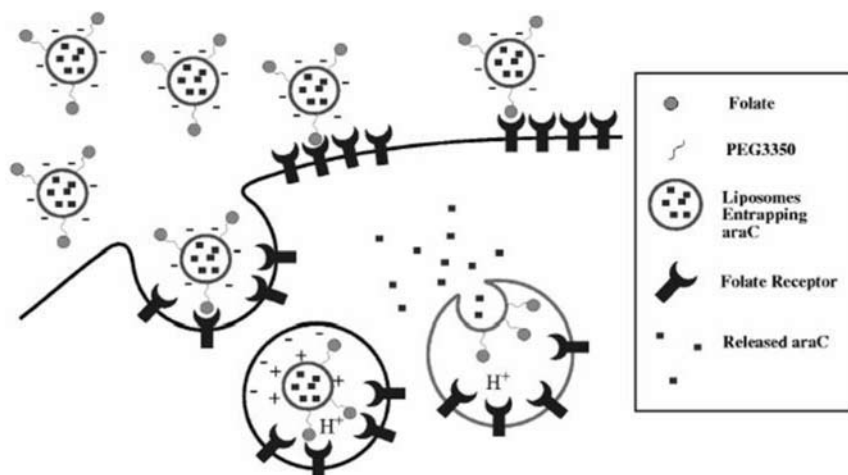


Figura 12: nanopartícula de ferro magnético associado a grupos funcionais.

A penetração deste tipo de partícula quando associado a estes elementos permite uma grande eficiência para atingir as células. Os elementos de superfície podem ser transformados em um material nanométrico específico. Logo, pode-se dirigir eficientemente o fármaco encapsulado a um sistema celular.

A Fig. 13 mostra um caso típico, no qual as células cancerosas têm receptores de ácido fólico em forma exacerbada. As células normais não têm. O que é feito para dirigir a nanopartícula? Faz-se uma partícula na qual é colocada o antitumoral, e na superfície coloca-se um derivado do ácido fólico. O que vai fazer a célula? Esta vai reconhecer esse material pelos receptores do ácido fólico da célula cancerosa, e a partícula penetrará com a droga anti-câncer eliminando a célula cancerosa. Como este processo é próprio da célula cancerosa, as células normais não serão atacadas. (Fig. 13).



G. Shi et al. *J. Control. Release* 80, 309-319 (2002).

Figura 13: Seletividade de nanopartículas em células cancerosas.

Novas experiências

A Fig. 14 a seguir mostra um novo material que tem a mesma finalidade de ser seletivo, mas com uma forma diferente. Este novo material liga uma droga anti-câncer (violaceína) a uma partícula de ouro. Este permite ser seletivo quando o anti-câncer está associado a ciclodextrina, entretanto o anti-câncer somente associado a ciclodextrina se apresenta absolutamente inespecífico. Quando é encapsulado em ouro, ele é seletivo: na célula normal não faz nada e na célula cancerosa a destrói.

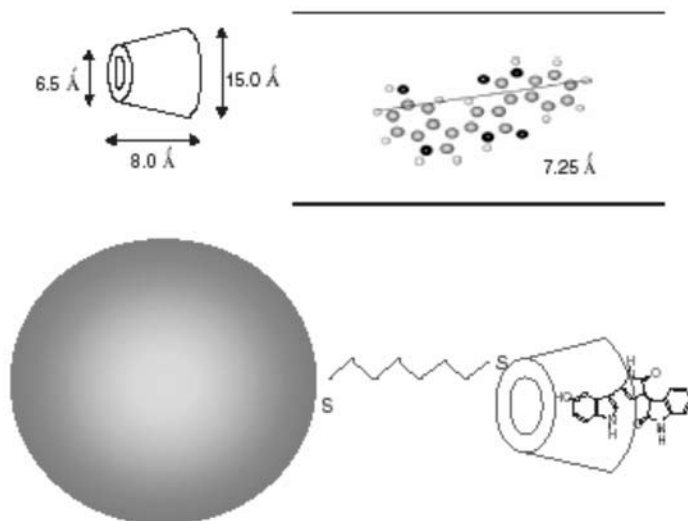


Figura 14: Nanopartículas de ouro associadas a ciclodextrinas e violaceína .

Cytotoxicity on V79 and HL60 Cell Lines by Thiolated- β -Cyclodextrin-Au/Violacein Nanoparticles
 I.F. Gimenez, M.C. Anazetti, P.S. Melo, M. Haun, M.M. M. De Azevedo,
 N. Durán and O.L. Alves, *J. Biomed. Nanotechnol.*1, 1-7 (2005).

Existem alguns estudos também com o uso de antibióticos com partículas de prata.

Se vocês trabalham com concentrações de prata mais baixas que MIC para o microrganismo este não atua. Entretanto quando usado na presença de um antibiótico (também abaixo do MIC) observa-se um efeito sinérgico (P. Li, J. Li, C. Wu, Q. Wu, J. Li. Synergistic antibacterial effects of β -lactam antibiotic combined with silver nanoparticles. *Nanotechnology* 16, 1912–1917 (2005)).

Estudos feitos com clindamicina, visando tratamento de leishmaniose, observou resultados similares (Brocchi et al. *J. Nanosci. Nanotechnol.*, submitted (2007); Durán et al., *Crit. Rev. Microbiol.* Submitted (2007)).

Um trabalho com nanopartículas associada à vancomicina mostrou resultados similares (H. Gu, P.L. Ho, E. Tong, L. Wang, B. Xu). Presenting vancomycin on nanoparticles to enhance antimicrobial activities. *Nano Lett.* 3, 261 (2003)).

Estas são as pesquisas que fazemos em termos de nanobiotecnologia. Há uma variedade de produtos já desenvolvidos nesta área.