

Nanotecnologia na saúde: aplicações e perspectivas

Nanotechnology in healthcare: applications and perspective

Ana Rita Ramalho Figueiras¹; André Brito Coimbra¹; Francisco José Baptista Veiga¹.

¹ Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, Polo das Ciências da Saúde, Azinhaga de Santa Comba, 3000-548 Coimbra, Portugal.

* Autor correspondente

Endereço: Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, Polo das Ciências da Saúde, Azinhaga de Santa Comba, 3000-548, Coimbra.

E-mail: fveiga@ci.uc.pt

RESUMO

A Nanotecnologia é um ramo da Ciência que enquadra todas as tecnologias e processos que manipulam ou exploram materiais à nanoescala, permitindo significativos avanços em áreas que, não sendo novas, começam a ser reinventadas. Nos últimos anos, estes materiais têm-se mostrado cada vez mais importantes para a medicina. As nanopartículas são materiais com dimensão inferior a 100 nm e o seu estudo tornou-se uma área prioritária na investigação científica e desenvolvimento tecnológico. Um novo conceito, a Nanomedicina, concilia a nanotecnologia e a medicina de forma a desenvolver novas terapêuticas e melhorar as já existentes.

Palavras-chave: Nanotecnologia; Nanomedicina; Diagnóstico; Terapêutica.

ABSTRACT

Nanotechnology is a science field that brings together all the technologies and procedures that manipulate or study the materials at the nanoscale, allowing important developments in different areas. In recent years, these materials have gained an important role in modern medicine. Nanoparticles are materials with dimensions under 100 nm. The study of these materials has become a priority area for scientific research and technological development. A new concept, Nanomedicine, brings nanotechnology and medicine together in order to develop new therapies and improve the ones that already exist.

Key words: Nanotechnology; Nanomedicine; Diagnostics; Therapy.

INTRODUÇÃO

Durante muitos séculos, médicos e agentes de saúde pública procuraram auxiliar o corpo humano no seu esforço de se curar e reparar a si mesmo. De forma progressivamente mais célere, novos métodos e instrumentos foram adicionados à lista de ferramentas disponíveis para tal efeito: anestesia e técnicas de raios-x, antibióticos, técnicas de microcirurgia e, mais recentemente, técnicas como a biotecnologia, a medicina molecular ou a farmacogenômica.

Os constantes avanços e novas necessidades na investigação continuam a fomentar o desenvolvimento de novas áreas. Entre elas, uma das mais proeminentes e com maior rapidez de desenvolvimento é a nanotecnologia. Esta área tem sido foco de especial atenção e é alvo de grande entusiasmo devido ao seu potencial para revolucionar qualquer campo onde possa ser explorada.

Nem todos os avanços na nanotecnologia se reportam à saúde, nomeadamente à área médica. Os seus princípios e conceitos foram, aliás, desenvolvidos em estudos de outros campos do conhecimento, nos quais também despertou enorme interesse. Cientistas das mais diversas áreas de estudo (física, química, toxicologia, engenharia de materiais, entre outros) convergiram os seus interesses com o intuito de estudar e compreender a matéria à nanoescala.

NANOTECNOLOGIA: DEFINIÇÃO

As Nanociências e Nanotecnologias constituem abordagens à investigação e desenvolvimento que se referem ao estudo dos fenômenos e manipulação de materiais às escalas atômica, molecular e macromolecular, onde as propriedades diferem significativamente das de grande escala.

A Nanotecnologia é uma área multidisciplinar de ciências aplicadas e engenharia que lida com o *design* e manuseamento de componentes e sistemas extremamente pequenos. Pode definir-se como a ciência que estuda a compreensão e o controle da matéria de dimensões entre 1 a 100 nanômetros, onde fenômenos únicos potenciam novas aplicações (KARKARE, 2008).

A comunidade científica atribui a primeira referência à importância da possibilidade de dominar a matéria à nanoescala ao físico vencedor de um Prêmio Nobel, Richard Feynman na sua famosa conferência "*There's Plenty of Room at the Bottom*" na qual foi, pela primeira vez, proposta a teoria de que as propriedades dos materiais e aparelhos à nanoescala poderiam

apresentar futuras oportunidades. Este cientista referiu que:

"I want to build a billion tiny factories, models of each other, which are manufacturing simultaneously... The principles of physics, as far as I can see, do not speak against the possibility of maneuvering things atom by atom. It is not an attempt to violate any laws; it is something, in principle, that can be done; but in practice, it has not been done because we are too big." (KARKARE, 2008).

O termo "nanotecnologia" foi posteriormente criado e definido por *Norio Taniguchi*, professor da *Tokio University of Science*, em 1974 como uma "ciência que consiste principalmente no processamento da separação, consolidação e deformação de materiais por um átomo ou uma molécula (NNI).

O conceito foi depois popularizado e aprofundado nos anos 80 pelo engenheiro americano *Kim Eric Drexler*. À medida que a aceitação do conceito aumentou, o seu significado foi sofrendo alterações de modo a poder enquadrar as mais simples formas de tecnologia à escala nanométrica. A Iniciativa Nacional de Nanotecnologia foi criada, nos Estados Unidos da América, para financiar este tipo de tecnologia e a sua definição inclui qualquer elemento inferior a 100 nanômetros com propriedades novas (RAMSDEN, 2011).

A investigação em Nanotecnologia foca-se em perceber e criar materiais, dispositivos e sistemas melhorados que explorem essas propriedades.

Sendo uma área transversal aos vários domínios científicos, as suas aplicações são utilizadas em inúmeros setores tecnológicos e industriais como as tecnologias de informação, energias, ciências ambientais, medicina, segurança alimentar, transportes, entre outros.

NANOTECNOLOGIA NA SAÚDE E SUAS APLICAÇÕES

Entre as várias aplicações da Nanotecnologia, algumas das mais promissoras e com maior potencial para produzir impacto direto na vida dos seres humanos estão relacionadas com as ciências biomédicas. As Nanociências e a Nanotecnologia têm criado e transformado uma grande variedade de produtos e serviços passíveis de melhorarem a prática clínica e a saúde pública.

De acordo com Richard Feynman, a ideia original da utilização médica da nanotecnologia surgiu de Albert R. Hibbs a partir da sua teoria inicial:

"A friend of mine (Albert R. Hibbs) suggests

a very interesting possibility for relatively small machines. He says that, although it is a very wild idea, it would be interesting in surgery if you could swallow the surgeon. You put the mechanical surgeon inside the blood vessel and it goes into the heart and looks around. (Of course the information has to be fed out.) It finds out which valve is the faulty one and takes a little knife and slices it out. [Imagine] that we can manufacture an object that maneuvers at that level! Other small machines might be permanently incorporated in the body to assist some inadequately functioning organ.” (FREITAS, 2005).

O crescente interesse nas aplicações médicas da Nanotecnologia levou ao aparecimento de uma área conhecida como Nanomedicina.

A Nanomedicina refere-se à aplicação da Nanotecnologia no tratamento, diagnóstico, monitoramento, prevenção e controle de sistemas biológicos, tendo como principal objetivo melhorar a qualidade de vida das populações (FREITAS, 2005).

Algumas das mais importantes aplicações da Nanotecnologia na área da medicina encontram-se esquematizadas na figura 1.

DIAGNÓSTICO

Dispositivos de diagnóstico *in vitro*

Segundo a Diretriz 98/79/CEE, de 27 de Outubro, “um dispositivo para diagnóstico *in vitro* é qualquer dispositivo médico que consista num reagente, produto reagente, conjunto, instrumento, aparelho ou sistema, utilizado isoladamente ou combinado, destinado pelo fabricante a ser utilizado *in vitro* no exame de amostras provenientes do corpo humano, por forma a obter informações sobre estados fisiológicos ou estados de saúde, de doença, ou de anomalia congênita”.

O diagnóstico *in vitro* tradicional apresenta algumas condicionantes como custo, deterioração da amostra, longa duração, resultados inconclusivos para amostras menores, entre outras.

O recurso à Nanotecnologia trouxe uma nova geração de aparelhos de menores dimensões, mais rápidos, a custos menores e que não requerem manuseamento especializado, possibilitando, apesar disso, resultados fiáveis. Estes aparelhos necessitam de quantidades menores de amostra e podem fornecer resultados e dados biológicos muito mais completos a partir de uma medição (SAHOO, 2012).

Nanobiossensor

Um nanobiossensor define-se como um aparelho compacto de análise que incorpora um sensor contendo um elemento biológico, por exemplo, uma enzima, capaz de reconhecer e sinalizar a presença, atividade ou concentração de uma determinada espécie biológica. Os atributos principais dos biosensores são a sua especificidade e sensibilidade.

Um biossensor é geralmente composto por três elementos: o elemento biológico sensível, o detector ou transdutor e um aparelho de leitura (CHOI, 2012).

Na imagem seguinte (figura 2) encontra-se representado o esquema geral de um biossensor.

A interação entre um composto ou microorganismo de interesse e o elemento biológico do biossensor produz uma variação nas propriedades físico-químicas deste (por exemplo, pH, transferência de elétrons, calor, massa, entre outros) que são detectadas pelo transdutor. O sinal resultante indica a presença do analito de interesse e a sua concentração. Estes sensores utilizam métodos de medição baratos e diretos pelo que a sua produção se torna de baixo custo e são facilmente transportáveis. Permitem, também, a medição simultânea de vários parâmetros com recurso a um teste simples, efetivo e preciso (BOULAIZ et al., 2011).

A capacidade de detectar biomoléculas associadas a doenças, tais como metabólitos específicos, ácidos nucleicos, proteínas, patógenos e células, tais como as tumorais circulantes, é essencial, não só para o diagnóstico de uma doença, mas também para a investigação biomédica que envolve a descoberta e desenvolvimento de fármacos (CHOI, 2012).

O estabelecimento de métodos rápidos e fiáveis que possam ser usados em laboratórios bioquímicos para determinação de substâncias em fluidos biológicos é uma necessidade urgente, bem como a facilitação da sua utilização por indivíduos com menor grau de especialização. Tem igualmente sido presenciada uma deslocação das análises nos laboratórios centralizados para o consultório do médico ou para a casa do próprio doente.

A título de exemplo, algumas das principais aplicações dos nanobiossensores são:

- Biossensor de Glucose: a Nanotecnologia foi incorporada nos sensores de glucose com duas abordagens principais. Em primeiro, os sensores podem ser desenhados utilizando componentes à macro ou micro escala (tais como eletrodos, membranas e *hardware* de suporte) incorporando uma superfície nanoestruturada ou um

nanomaterial no seu *design*. As propriedades destes materiais à nanoescala trazem diversas vantagens, como maior área de superfície e atividade catalítica melhorada. Em segundo, técnicas de nanofabricação podem gerar sensores de glucose que são completamente à nanoescala. Estes sensores oferecem algumas vantagens sobre os sensores tradicionais: são sensores injetáveis, o que facilita a administração em relação à corrente técnica de implantação; devido ao seu reduzido tamanho possuem a capacidade de evitar uma resposta do sistema imune tendo assim uma maior duração. No entanto, estes sensores são uma mudança radical em relação aos correntes aparelhos de medição contínua de glucose e é ainda necessária investigação para que possam ser usados nos pacientes (CASH & CLARK, 2010).

- Biossensor de DNA: os biossensores de DNA têm um papel importante no diagnóstico clínico de doenças hereditárias. A rápida detecção de infecções patogênicas e o *screening* de colônias de cDNA são necessários em biologia molecular. Os métodos convencionais de análise de sequências de genes específicas são baseados ou na sequenciação direta ou hibridização de DNA (MARRAZZA, CHIANELLA & MASCINI, 1999).

Devido à sua simplicidade, a maior parte das técnicas utilizadas baseiam-se na hibridização. Várias técnicas de imobilização como adsorção, ligação covalente, ou a imobilização envolvendo complexação avidina-biotina foram adotadas para uma sonda de DNA para a superfície de um transdutor eletroquímico.

Microarrays

Os *arrays* têm-se tornado, cada vez mais, uma extensa variedade de ferramentas para estudos biológicos. Tradicionalmente, os *arrays* consistiam em coleções de moléculas – tipicamente cDNA ou oligonucleotídeos, ligadas a um substrato, normalmente uma lâmina de vidro e em posições pré-determinadas, formando um padrão em rede. No entanto, hoje em dia, os formatos são mais diversos. Existem vários tipos de tecnologias de *microarray*, não só de DNA, mas também de proteínas, hidratos de carbono, moléculas com propriedades farmacológicas, células ou tecidos (MÜLLER & NICOLAU, 2006).

Apesar das suas variadas “arquiteturas”, todos os *arrays* partilham uma característica comum: esta tecnologia permite análises *multiplex*, ou seja, permite a realização de múltiplos testes simultaneamente, quer recorrendo à medição de vários analitos numa só amostra, quer várias amostras serem testadas ao mesmo tempo para

um analito específico (MÜLLER & NICOLAU, 2006).

Os *microarrays* de DNA são suportes sólidos, pequenos, nos quais sequências de diferentes genes são imobilizadas. Estes suportes são normalmente lâminas de vidro microscópico, podendo também ser *chips* de silicone ou membranas de *nylon* (NCBI, 2007). Estas sequências são usadas para determinar se há ou não emparelhamento por complementaridade com as sequências em estudo (NHGRI, 2007).

Esta tecnologia é utilizada para testar padrões de expressão de uma doença, bem como para determinar a suscetibilidade individual a diversas patologias (SCHULZE e DOWNWARD, 2001).

Os *microarrays* de proteína compreendem detectores de proteínas (normalmente anticorpos) arranjados de forma sistemática numa lâmina de vidro que permite a investigação de perfis de expressão e a definição precisa das funções da proteína em relação a processos biológicos (MACBEATH, 2002).

Os *microarrays* de tecido permitem a análise simultânea da expressão de proteínas, RNA e DNA em múltiplas amostras de tecidos biológicos (BRAUNSCHWEIG, CHUNG & HEWITT, 2005).

Em seguida encontram-se sumariadas as principais aplicações de *microarrays* utilizadas (CLARKE, 2001):

- Análise da expressão genética, usada para determinar padrões de expressão genética e simultaneamente quantificar a expressão de um largo número de genes, permitindo a comparação da sua ativação entre tecidos saudáveis e alterados;
- Detecção de mutações e polimorfismos mesmo em genes complexos;
- Sequenciação de pequenos fragmentos de DNA;
- Seguimento de terapias, permitindo a avaliação de características genéticas que podem afetar a resposta terapêutica;
- Medicina preventiva, desenvolvimento do conhecimento das características genéticas de doenças, de forma a tratar e prevenir antes do aparecimento de sintomas;
- *Screening* de potenciais moléculas terapêuticas e toxicologia, analisando alterações na expressão de genes durante a administração de um fármaco, assim como localizar novos possíveis alvos terapêuticos e testar efeitos toxicológicos associados;
- Diagnóstico clínico, permitindo a rápida identificação de agentes patogênicos com recurso a marcadores genéticos apropriados.

Lab-on-a-chip

Trata-se de um aparelho que integra uma ou várias funções laboratoriais num único *chip* de milímetros. Um dos conceitos chave com que esta tecnologia lida é a “*microfluidics*” uma vez que são utilizados volumes extremamente pequenos de fluido. Estes aparelhos incorporam funções como a preparação da amostra, purificação, armazenamento, mistura, detecção, entre outras. Entre as vantagens da utilização deste tipo de tecnologia inclui-se a rápida análise de pequenas amostras, a facilidade de utilização e o baixo custo. É utilizado em *immunoassays* e PCR para detecção de bactérias, vírus e células cancerígenas e ainda para extração do respectivo DNA (BADAWY & GHALLAB, 2010).

Estes aparelhos podem ser utilizados em vários tipos de teste, destacando-se:

- Detecção de ácidos, proteínas e células relevantes para o diagnóstico de diferentes doenças;

- Isolamento de células, reconhecimento e marcação de biomarcadores para detecção de alguns tipos de cancro, evitando assim a realização de uma biopsia;

- Detecção de conjuntos de proteínas presentes na saliva para diagnóstico cardíaco, do vírus HIV e outras proteínas indicativas de uma subida nos níveis virais, associadas à progressão da doença, tendo como vantagem a capacidade de monitorizar marcadores virais e imunológicos num único *chip* (I.N.d.P., 2007).

Diagnóstico *in vivo*

Imagiologia

A imagiologia tornou-se essencial ao longo dos últimos anos. Inicialmente, apenas se conseguiam detectar alterações na aparência dos tecidos quando os sintomas se encontravam já relativamente avançados. Mais tarde, foram introduzidos os agentes de contraste para facilitar a identificação. Hoje em dia, através da aplicação da Nanotecnologia, tanto os métodos imagiológicos como os de contraste têm sido melhorados com o objetivo de possibilitar a detecção da doença o mais precocemente possível.

A imagiologia convencional é realizada com a inserção de corantes na amostra. Alguns problemas que ocorrem neste tipo de imagiologia são a ocorrência de uma intensidade de fluorescência inadequada e a fotodegradação, para além da potencial iatrogenia para o doente (MURTHY, 2007).

A Nanotecnologia permitiu a criação de novos agentes de contraste para a imagiologia médica. A associação da Nanotecnologia a esta área da medicina é sem dúvida revolucionária.

O termo “*imagiologia molecular*” pode ser definido como a caracterização e medição *in vivo* de processos biológicos a nível celular e molecular (WEISSLEDER & MAHMOOD, 2001). Os principais benefícios da imagiologia molecular no diagnóstico *in vivo* são a possibilidade de detecção precoce da doença e o monitoramento da sua evolução (por exemplo, do processo de metástase) (BOULAIZ et al., 2011).

Existem vários tipos de imagiologia, nomeadamente, bioluminescência ótica, fluorescência ótica, ultrassons dirigidos, ressonância magnética molecular (MRI), espectroscopia de ressonância magnética (MRS), tomografia de emissão de fóton único (SPECT) e tomografia de emissão de pósitrons (PET) (CAI & CHEN, 2007).

Imagiologia ótica

Esta tecnologia é um método relativamente pouco dispendioso. Na imagiologia de fluorescência, a luz de excitação ilumina a amostra e a luz de emissão é recolhida noutro comprimento de onda. As nanopartículas melhor estudadas para aplicação na imagiologia ótica são os *quantum dots* (QDs). São nanopartículas compostas por moléculas inorgânicas semicondutoras que emitem forte luz fluorescente quando iluminadas por luz ultravioleta (UV) e que possuem várias propriedades vantajosas para imagiologia biológica, nomeadamente, alto coeficiente de extinção molar, resistência à fotodegradação e degradação química, entre outras.

Como são substâncias inorgânicas, os QDs são insolúveis em soluções aquosas. Sendo assim, é importante o seu revestimento com uma fina camada de um material solúvel em água. Este passo é, normalmente, seguido pelo revestimento por um material que ligue preferencialmente a uma célula ou componente celular específico. A superfície de cada QD possui um grande número de locais onde moléculas solúveis e/ou bioativas se podem ligar. Além disso, mais do que um tipo de moléculas pode se ligar a cada QD conferindo-lhe múltiplas funcionalidades (MURTHY, 2007).

MRI molecular

MRI é uma técnica de diagnóstico não-invasiva baseada na interação de certos núcleos (tipicamente prótons) entre si e com as moléculas

circundantes num tecido de interesse. Esta técnica utiliza a espectroscopia magnética de ressonância para analisar átomos de hidrogênio que estão naturalmente presentes no tecido. Diferentes nanopartículas têm sido utilizadas com êxito como agentes de contraste com capacidade resolutive para áreas como os rins ou o cérebro, células cancerígenas e pequenas metástases, tais como as linfáticas em doentes com cancro da próstata (MURTHY, 2007).

Nano-harvesting de biomarcadores

Os investigadores que tentam identificar biomarcadores de determinada doença no sangue deparam-se com dois principais problemas. Um deles é que duas proteínas (albumina e imunoglobulina) correspondem a 90% das moléculas do sangue, enquanto qualquer potencial biomarcador só se encontrará em quantidades ínfimas. Muitas das moléculas presentes no sangue estão ligadas a estas duas proteínas principais, dificultando a sua posterior análise. Para além disso, muitos dos potenciais biomarcadores são proteínas que sofrem rápida degradação por vários enzimas presentes no sangue quase imediatamente após a colheita do mesmo (LUCHINI et al., 2008).

A Nanotecnologia oferece novas abordagens para poder contornar estas barreiras. Uma dessas abordagens consiste nas nanopartículas designadas por *smart hydrogel coreshell*. Uma partícula de hidrogel é uma partícula de dimensões submicrométricas composta de polímeros hidrofílicos capazes de dilatar e contrair em resultado de um estímulo ambiental como a temperatura, pH, ou um campo elétrico. Estas partículas permitem a captura, o enriquecimento e encapsulamento de classes selecionadas de proteínas e peptídeos de misturas complexas de biomoléculas como plasma, evitando a sua degradação durante o manuseamento da amostra. Os analitos capturados podem ser extraídos das partículas por eletroforese permitindo a subsequente análise quantitativa (LUCHINI et al., 2008).

À medida que os biomarcadores presentes no sangue forem sendo melhor caracterizados, as plataformas de “*nano-harvesting*” terão um potencial cada vez maior para melhorar a detecção de uma doença num estado que se pretende cada vez mais precoce.

NANOFÁRMACOS

O foco da prática farmacêutica engloba aspetos mais tradicionais como a preparação e

administração de fármacos, pelo que a grande maioria das patologias é abordada com a terapêutica farmacológica que vai desde pequenas moléculas de síntese química a moléculas biológicas. No entanto, o uso de fármacos sistêmicos pode produzir alguns efeitos colaterais. De forma a tentar evitar esses mesmos efeitos e melhorar algumas das características dos fármacos tradicionais, nomeadamente a biocompatibilidade, solubilidade ou a estabilidade tm sido desenvolvida uma nova área - a dos Nanofármacos.

O termo “Nanofármacos” designa os produtos farmacêuticos desenhados com recurso à Nanotecnologia e inclui a descoberta, desenvolvimento e administração do fármaco.

Sistema de entrega de fármacos

A entrega do composto terapêutico ao seu alvo é um problema no tratamento de várias doenças. A administração convencional de fármacos é caracterizada por uma eficácia limitada, fraca biodistribuição e falta de seletividade. Estas limitações podem ser evitadas recorrendo à libertação controlada dos princípios ativos. Neste sistema, o fármaco é levado para o seu tecido alvo, minimizando assim a sua influência noutras células com a redução dos consequentes efeitos colaterais indesejáveis (WILCZEWSKA, 2012).

Este sistema de entrega pode ser alcançado ligando o fármaco a transportadores individualmente desenhados designados por nanoveículos. Estes são compostos à nanoescala usados como ferramentas terapêuticas e desenhados para se acumular especificamente nos locais do organismo onde são necessários de forma a melhorar os resultados farmacoterapêuticos. O principal objetivo desta aplicação é aumentar a eficácia terapêutica, ao mesmo tempo que se obtém uma menor toxicidade. Devido às pequenas dimensões destes nanomateriais, estes não são reconhecidos pelo organismo evitando possíveis respostas imunológicas (SAHOO, 2012).

O processo utilizado para a conjugação do fármaco com o veículo e a sua estratégia de direcionamento são muito importantes para esta terapia. O fármaco pode ser adsorvido, ligado covalentemente à superfície do transportador, ou encapsulado por este. A ligação covalente tem a vantagem de possibilitar controlar o número de compostos terapêuticos que se ligam. A entrega num alvo específico é alcançada utilizando mecanismos ativos ou passivos. A primeira estratégia baseia-se na atração do fármaco pelo

transportador; este último conjuga-se no local afetado utilizando ligandos de reconhecimento de baixo peso molecular, ligados à superfície de anticorpos. Após a chegada do conjugado fármaco-nanoveículo ao tecidos alvo, os agentes terapêuticos são libertados; sendo o controle desta libertação feito através de alterações no ambiente fisiológico, tais como temperatura, pH, osmolalidade ou via atividade enzimática (WILCZEWSKA et al., 2012).

As nanopartículas podem ultrapassar os efeitos laterais das chamadas terapêuticas convencionais pelos seguintes meios: possibilitando uma libertação prolongada do fármaco; aumentando a permeabilidade passiva (ou seja, por exemplo, direcionamento para o tecido tumoral); direcionando como alvo a superfície celular, recorrendo a ligandos associados à internalização por endossomas com a ruptura das membranas, permitindo a libertação do fármaco no citoplasma, e protegendo-o da degradação enzimática (BOULAIZ et al., 2011).

Dos principais objetivos da libertação controlada do fármaco destacam-se a diminuição dos efeitos laterais das terapias convencionais, ao reduzir de forma significativa a concentração do fármaco no organismo; a melhora dos perfis farmacocinético e farmacodinâmico; permitir a administração intravenosa de alguns fármacos ao aumentar a sua solubilidade; reduzir a perda de fármaco no seu ciclo e aumentar a concentração no alvo; melhorar a estabilidade e evitar a degradação do fármaco; alcançar um *uptake* celular e entrega intracelular ótimos; e assegurar biocompatibilidade e biodegradabilidade (BOULAIZ et al., 2011). Alguns exemplos de partículas utilizadas nesta técnica são explanados de seguida.

Micelas

Uma micela trata-se de um agregado de moléculas anfifílicas que surge espontaneamente mediante a sua imersão em água, formando, mediante estabelecimento de interações hidrofóbicas, vesículas esféricas. Caracterizam-se por possuírem um núcleo hidrofóbico, no qual, substâncias hidrofóbicas, como compostos farmacológicos, podem ser introduzidas para libertação em diferentes partes do organismo (XU, LING & ZHANG, 2013).

Nanoemulsões

São sistemas heterogêneos que consistem em duas fases imiscíveis, uma fase oleosa e outra aquosa. São utilizados diferentes tipos de

surfactantes para estabilizar a emulsão, prevenindo que a fase dispersa coalesça numa fase macroscópica. Ao contrário das emulsões normais, as nanoemulsões são termodinamicamente e cineticamente estáveis; são limpas e translúcidas; possuem maior área de superfície em relação ao volume e maior energia livre; a quantidade de surfactante necessário para a sua estabilização é também menor (THAKUR et al., 2012).

A capacidade das nanoemulsões para dissolver grandes quantidades de compostos hidrofóbicos, assim como a sua compatibilidade e habilidade para proteger o fármaco de hidrólise e degradação enzimática, torna-as os veículos ideais para o transporte parenteral. Além disso, a frequência e dosagem das injeções podem ser reduzidas ao longo do período de terapia, uma vez que estas emulsões garantem a libertação do fármaco de uma forma sustentada e controlada (LOVELYN & ATTAMA, 2011).

Dendrímeros

São uma classe de polímeros sintéticos que possuem peso molecular monodisperso e uma estrutura tridimensional ramificada bem definida. O tamanho e forma dos dendrímeros dependem do número de ramos e dos constituintes destes. Os dendrímeros acomodam pequenas moléculas e nanopartículas no seu interior através de interações eletrostáticas e hidrofóbicas (SATO & ANZAI, 2013). Estas estruturas são utilizadas para transportar fármacos de duas maneiras: a) ao ligar moléculas de fármaco a grupos funcionais na superfície dendrímica; b) ao prender o fármaco nos canais dendríticos dentro da esfera (BOULAIZ et al., 2011).

Lipossomas

Os lipossomas são estruturas vesiculares esféricas formadas por uma bicamada lipídica composta de moléculas de fosfolípidos e colesterol caracterizados por duas fases separadas, uma hidrofílica e outra hidrofóbica. A eficácia dos lipossomas enquanto veículo de fármacos está relacionada com a sua farmacocinética e depende das condições físico-químicas (e.g. tamanho, carga, dose, via de administração). Uma vantagem dos lipossomas é a sua longa persistência na corrente sanguínea. Estudos realizados demonstraram que os lipossomas são capazes de aumentar a solubilidade de fármacos e melhorar as suas propriedades farmacocinéticas (WILCZEWSKA et al., 2012). O fármaco é

incorporado no lipossoma por um processo de encapsulação. A libertação do fármaco depende da composição do lipossoma, do pH, do gradiente osmótico e do ambiente circundante. Adicionalmente, proporcionam ao fármaco encapsulado um tempo prolongado de residência aumentando a sua duração de ação. As interações dos lipossomas com as células podem ocorrer por: adsorção, fusão, endocitose e transferência lipídica (WILCZEWSKA et al., 2012).

NANOTHERANOSTICS

O termo *nanotheranostics* define a integração e combinação das modalidades de terapêutica e diagnóstico num único sistema, utilizando para tal os benefícios da Nanotecnologia (KIM, LEE & CHEN, 2013). O seu objetivo é desenvolver estratégias terapêuticas específicas e individualizadas em direção a uma medicina personalizada, tendo em conta o fato de que uma eficácia aceitável num determinado tratamento seria alcançada apenas em alguns pacientes. Ao combinar diagnóstico e terapêutica num único agente, surge um novo tipo de protocolo, permitindo adaptar o tratamento com base nos resultados dos testes (WANG, CHUANG & HO, 2012). A ideia surgiu do fato de doenças, como por exemplo o cancro, serem muito heterogêneas, e os tratamentos existentes são eficazes apenas em algumas subpopulações de pacientes e em determinados estágios da progressão da doença (XIE, LEE & CHEN, 2010).

Uma das características mais promissoras da utilização das nanopartículas como agentes de *theranostics* é a possibilidade de as direcionar a locais específicos e diminuir os efeitos secundários indesejados. Devido ao seu tamanho reduzido, há uma menor probabilidade de eliminação renal, aumentando o tempo de circulação na corrente sanguínea. Além disso, os vasos sanguíneos tumorais têm tendência a ser irregularmente dilatados e permeáveis permitindo assim às nanopartículas extravasar dos vasos para o tecido. Outra importante vantagem é a sua maior área de superfície em relação ao volume, aumentando a sua capacidade de ligação de agentes terapêuticos e de imagiologia, ou a própria existência de agentes de imagiologia em alguns dos nanomateriais utilizados (WANG, CHUANG & HO, 2012).

Ao combinar a imagiologia molecular com a terapia molecular, esta tecnologia pode ser aplicada em diversos campos da medicina personalizada, tais como detecção precoce da doença, determinação do estágio da doença, seleção da terapia, planeamento da terapia,

reconhecimento de possíveis efeitos adversos em momentos iniciais do tratamento e planeamento de terapias de *follow-up*. Um sistema de *theranostic* utilizado em pacientes que sofram de cancro, por exemplo, consistiria em diagnosticar, em primeiro lugar, o tipo e classe de cancro, fazer imagiologia e perceber a heterogeneidade do tumor, aplicar um tratamento adaptado baseado no diagnóstico e resultados da imagiologia e, por fim, monitorizar a eficácia do tratamento (KIM, LEE & CHEN, 2013). Outro exemplo consiste na identificação de um biomarcador que esteja expresso de forma exagerada na superfície das células cancerígenas, ligando seguidamente um vetor que permita o seu reconhecimento aos nanoveículos de forma a permitir a sua veiculação para o tumor (XIE, LEE & CHEN, 2010).

As figuras seguintes (3 e 4) representam, respectivamente, alguns exemplos de aplicações concretas desta tecnologia e um esquema geral da mesma.

MEDICINA REGENERATIVA

A engenharia de tecidos aproxima princípios e inovações da engenharia e das ciências biomédicas para o melhoramento, reparação ou substituição da função de um tecido/órgão. Desde a concepção da ideia, este campo tem sido regido pelo conceito genérico de combinar propriedades celulares com diversas abordagens tecnológicas no *design* e fabrico de novos tecidos/órgãos (MURA & COUVREUR, 2012).

Todos os tecidos ou órgãos do nosso corpo são compostos por células do parênquima e mesênquima que se encontram numa matriz extracelular para formar um microambiente, e estes, coletivamente, formam os nossos tecidos ou órgãos. Em termos de desenvolvimento e manutenção dos tecidos e órgãos, o nosso organismo atua como um biorreator expondo o microambiente da célula e a matriz extracelular a forças biomecânicas e sinais bioquímicos.

O principal objetivo desta técnica é permitir ao organismo curar-se a si próprio ao introduzir um tecido desenvolvido exteriormente, mas que o corpo reconhece como sendo seu, usando-o para regenerar tecidos funcionais (BARNES et al., 2007).

Tem sido colocada a hipótese que, de forma a replicar todas as reações intercelulares essenciais e promover respostas intracelulares normais, deve ser conseguida a mimetização da matriz extracelular. Esta matriz extracelular deve ser desenhada de acordo com alguns requisitos. O

primeiro é que o material deve ser biocompatível e funcionar sem interromper outros processos fisiológicos; em segundo, o *scaffold* não deve promover ou iniciar qualquer tipo de reação adversa no tecido; a produção do *scaffold* deve ser simples mais versátil, de forma a produzir tecidos de diferentes formas, tamanhos e/ou forças (BARNES et al., 2007).

Esta tecnologia aborda duas estratégias principais. A primeira consiste em semear e expandir células estaminais do paciente em *scaffolds* 3D num biorreator. O tecido híbrido resultante é depois implantado no paciente (juntamente com fatores de crescimento) como uma matriz de tecido. A necessidade de colher e expandir as células estaminais coloca ainda alguns problemas de eficácia e eficiência no processo. A segunda estratégia baseia-se no desenvolvimento de materiais inteligentes que são capazes de enviar sinais às células estaminais já presentes no tecido doente ou ferido que permitem despoletar um processo de regeneração (ENGEL et al., 2008). No entanto, atualmente, apenas algumas técnicas são capazes de produzir eficazmente nanofibras e subsequentemente *scaffolds* (BARNES et al., 2007).

PERSPETIVAS FUTURAS

O recurso à Nanotecnologia e às nanopartículas tem permitido enormes contribuições à prática clínica. Pode oferecer soluções interessantes para várias doenças que ameaçam a vida. Algumas doenças que se espera serem das mais beneficiadas pela Nanotecnologia nos próximos anos são cancro, doenças cardiovasculares, pulmonares, de sangue, doenças neurodegenerativas, diabetes, doenças infecciosas, problemas ortopédicos e doenças como *Alzheimer* ou *Parkinson* (SAHA, 2009).

Esta tecnologia tem alterado a forma como as doenças são diagnosticadas, tratadas e prevenidas. Nos últimos anos a aposta no campo da nanotecnologia cresceu exponencialmente e prevê-se que assim continue nos próximos anos. Aparelhos multifuncionais capazes de detectar e monitorar doenças, “conduzir” medicamentos, entre outros estarão brevemente ao nosso alcance (BAWARSKI et al., 2008).

De seguida, são apresentadas algumas das aplicações que se encontram atualmente em fase de investigação (MOGHIMI, HUNTER & MURRAY, 2005).

Sequenciação de nanoporos

Trata-se de um método ultra-rápido de

sequenciação baseado na nanoengenharia e montagem de poros. Um pequeno potencial elétrico “empurra” uma cadeia de DNA carregada através de um poro com 1-2nm de diâmetro num complexo de proteína alfa-hemolisina, inserida numa camada bilipídica que separa dois compartimentos condutores. O perfil de tempo e da cadeia são recolhidos e posteriormente traduzidos para sinais elétricos para identificar cada base. Este método pode sequenciar mais de 1000 bases por segundo. Esta tecnologia tem muito potencial para a detecção de polimorfismos em nucleotídeos, e para diagnóstico de patógenos em genes (PENG & CHEN, 2003), (ZHENG, ZUO & LI, 2001).

Microagulhas

Agulhas e lancetas micromanipuladas com capacidade de ajustar ângulos de entrada, espessura da parede e dimensão do canal foram construídas a partir de cristais de silicone combinando ligação por fusão, fotolitografia e *anisotropic plasma etching*. Esta tecnologia está a ser aplicada na administração indolor de fármacos, injeções celulares e em vários procedimentos de diagnóstico (por exemplo, monitoramento de níveis de glucose) (SPARKS & HUBBARD, 2004).

Microchips para entrega de fármacos

São aparelhos microfabricados, que incorporam bombas, válvulas e canais de fluxo à microescala, permitindo a libertação controlada de um ou vários fármacos. Estes aparelhos são particularmente úteis para tratamentos de longa duração em doenças que requerem a libertação “pulsátil” do fármaco. O mecanismo de libertação é baseado na dissolução eletroquímica de membranas finas que cobrem um microreservatório onde se encontram os fármacos. Assim, os sistemas de libertação controlada podem ser desenhados de forma a libertar pequenas quantidades de diferentes fármacos ao utilizar diferentes matérias para esta membrana (GRAYSON et al., 2003).

CONCLUSÃO

A Nanotecnologia é um campo interdisciplinar emergente, resultante da combinação da biologia, da química e da engenharia. Tem sido alvo de grande atenção devido ao seu potencial para revolucionar cada área onde seja explorada e utilizada. Um dos ramos onde tem tido evidentes progressos e têm sido feitos grandes investimentos é no campo das

ciências biomédicas e da medicina. As suas aplicações na medicina podem criar novas oportunidades de desenvolvimento de técnicas e aparelhos que permitem melhorar a qualidade de vida das populações, o que gera enormes expectativas em torno do seu estudo e desenvolvimento.

Recentemente, o estudo e aplicação das nanopartículas têm proporcionado uma grande contribuição para a prática clínica, principalmente nas áreas da imagiologia médica e da liberação controlada de fármacos. No entanto, ainda muitas tecnologias se encontram em fase de desenvolvimento, e outras por surgir. Estão criadas expectativas para que num futuro próximo assumam um papel preponderante nos avanços em direção a uma medicina personalizada, melhorando a sensibilidade e especificidade de técnicas já existentes, assim como desenvolvendo novos instrumentos de diagnóstico, permitindo um diagnóstico e terapia mais precoces e personalizados, e desta forma, melhorar a eficácia dos tratamentos e reduzir os efeitos secundários. No entanto, por diversas razões, a implementação da nanomedicina na prática clínica de rotina irá ainda enfrentar alguns desafios por parte das agências regulamentares, da população em geral, companhias de seguros, entre outros.

REFERÊNCIAS

- A&G PHARMACEUTICAL. **A&G Theranostic (Rx-Dx) Development: Earlier Detection & More Effective Targeted. Treatments A & G Theranostics Products.** 2009. Disponível em: <<http://agpharma.com/products/agrxdx.html>>;
- BARNES, C. P.; SELLA, S. A.; BOLANDA, E. D.; SIMPSON, D. G.; BOWLIN, G. L. Nanofiber technology: designing the next generation of tissue engineering scaffolds. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, n. 14, p. 1413-1433, 2007;
- BAWARSKI, W. E.; CHIDLOWSKY, E.; BHARALI, D. J.; MOUSA, S. A. Emerging nanopharmaceuticals. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 4, n. 4, p. 273-282, 2008;
- BOULAIZ, H.; ALVAREZ, P. J.; RAMIREZ, A.; MARCHAL, J. A.; PRADOS, J.; RODRIGUEZ-SERRANO, F.; PÉLAN, M.; MELGUIZO, C.; ARANEGA, A. Nanomedicine: application areas and development prospects. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, n. 5, p. 3303-3321, 2011;
- BRAUNSCHWEIG, T.; CHUNG, J. Y.; HEWITT, S. M. Tissue microarrays: bridging the gap between research and the clinic. **Expert Review of Proteomics**, v. 2, n. 3, p. 325-336, 2005;
- CAI, W.; CHEN, X. Nanoplatfoms for targeted molecular imaging in living subjects. **Small**, v. 3, n. 11, p. 1840-1854, 2007;
- CASH, K. J.; CLARK, H. A. Nanosensors and nanomaterials for monitoring glucose in diabetes. **Trends in Molecular Medicine**, v. 16, n. 12 p. 584-593, 2010;
- CHEN, C. M.; PENG, E. H. Nanopore sequencing of polynucleotides assisted by a rotating electric field. **Applied Physics Letters**, v. 82, n. 8, p. 1308-1310, 2003;
- CHOI, C. Integrated nanobiosensor technology for biomedical application. **Nanobiosensors in Disease Diagnosis**, v. 1, 1, p. 1-4, 2012;
- CLARKE, P. A.; POELEA, R. te; WOOSTERB, R.; WORKMAN, P. Gene expression microarray analysis in cancer biology, pharmacology, and drug development: progress and potential. **Biochemical Pharmacology**, v. 62, n. 10, p. 1311-1336, 2001;
- ENGEL, E.; MICHIARDI, A.; NAVARRO, M.; LACROIX, D.; PLANELL, J. A. Nanotechnology in regenerative medicine: the materials side. **Trends in Biotechnology**, v. 26, n. 1, p. 39-47, 2008;
- FREITAS, R. A. Nanotechnology, nanomedicine and nanosurgery. **International Journal of Surgery**, v. 3, n.4, p. 243-246, 2005;
- GHALLAB, Y. H.; BADAWY, W. **Lab-on-a-chip: Techniques, Circuits, and Biomedical Applications.** Calgary: Artech House, Incorporated, 2010;
- GRAYSON, A. C. R.; CHOI, I. S.; TYLER, B. M.; WANG, P. P.; BREM, H.; CIMA, M. J.; LANGER, R. Multi-pulse drug delivery from a resorbable polymeric microchip device. **Nature Materials**, v. 2, n. 11, p. 767-772, 2003;
- KARKARE, M. **Nanotechnology: Fundamentals And Applications.** I.K. International Publishing House Pvt. Limited. p. 1-21, 2008;
- KIM, T. H.; LEE, S.; CHEN, X. Nanotheranostics for personalized medicine. **Expert Review of Molecular Diagnostics**, v. 13, n. 3, p. 257-269,

2013;

KIVIRAND, K.; KAGAN, M.; RINKEN, T. Calibrating Biosensors in Flow-Through Set-Ups: Studies with Glucose Optrodes. In: RINKEN, T. **State of the Art in Biosensors - General Aspects**. InTech, 2013;

LOVELYN, C.; ATTAMA, A. A. Current State of Nanoemulsions in Drug Delivery. **Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology**, v. 2, n. 5A, p. 626-639, 2011;

LUCHINI, A.; GEHO, D. H.; BISHOP, B.; TRAN, D.; XIA, C.; DUFOUR, R. L.; JONES, C. D.; ESPINA, V.; PATANARUT, A.; ZHOU, W.; ROSS, M. M.; TESSITORE, A.; PETRICOIN, E. F.; LIOTTA, L. A. Smart hydrogel particles: biomarker harvesting: one-step affinity purification, size exclusion, and protection against degradation. **Nano Letters**, v. 8, n. 1, p. 350-361, 2008;

MACBEATH, G. Protein microarrays and proteomics. **Nature Genetics Supplements**, v. 32, p. 526-532, 2002;

MARRAZZA, G.; CHIANELLA, I.; MASCINI, M. Disposable DNA electrochemical sensor for hybridization detection. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 14, n. 1, p. 43-51, 1999;

MOGHIMI, S. M.; HUNTER, A. C.; MURRAY, J. C. Nanomedicine: current status and future prospects. **The FASEB Journal**, v. 19, n. 3, p. 311-330, 2005;

MÜLLER, U. R.; NICOLAU, D. V. **Microarray Technology and Its Applications**. Berlin/Nova lorque: Springer, 2006;

MURA, S.; COUVREUR, P. Nanotheranostics for personalized medicine. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, n. 13, p. 1394-1416, 2012;

MURTHY, S. K. Nanoparticles in modern medicine: state of the art and future challenges. **International Journal of Nanomedicine**, v. 2, n. 2, p. 129-141, 2007;

NCBI. National Center for Biotechnology Information. Microarrays: chipping away at the mysteries of science and medicine. Bethesda: NCBI, 2007. Disponível em: <<http://fenchurch.mc.vanderbilt.edu/bmif310/2008/Reading9-NCBI-2007.pdf>>;

NHGRI. National Human Genome Research

Institute. **DNA Microarray Technology**, 2011. Disponível em: <<http://www.genome.gov/10000533>>;

NNI. National Nanotechnology Initiative. **What is nanotechnology?** Disponível em <<http://www.nano.gov/nanotech-101/what/definition>>;

PARREIRA, D. B.; LEITÃO, T. G. **Nanobiossensores**. INPI: Portugal, 2010;

RAMSDEN, J. **Nanotechnology: An Introduction**. Elsevier, p. 1-13, 2011;

SAHA, M. Nanomedicine: promising tiny machine for the healthcare in future-a review. **Oman Medical Journal**, v. 24, n. 4, p. 242-247, 2009;

SAHOO, S. **Nanotechnology in Health Care**. Pan Stanford Publishing: United Kingdom, p. 1-20, 2012;

SATO, K.; ANZAI, J. Dendrimers in Layer-by-Layer Assemblies: Synthesis and Applications. **Molecules**, v. 18, n. 7, p. 8440-8460, 2013;

SCHULZE, A.; DOWNWARD, J. Navigating gene expression using microarrays-a technology review. **Nature Cell Biology**, v. 3, n.8, p. E190-1955, 2001;

SPARKS, D.; HUBBARD, T. Micromachined needles and lancets with design adjustable bevel angles. **Journal of Micromechanics and Microengineering**, v. 14, n.8, p. 1230-1233, 2004;

THAKUR, N.; GARG, G.; SHARMA, P. K.; KUMAR, N. Nanoemulsions: A Review on Various Pharmaceutical Application. **Global Journal of Pharmacology**, v. 6, n. 3, p. 222-225, 2012;

WANG, L. S.; CHUANG, M. C.; HO, J. A. Nanotheranostics--a review of recent publications. **International Journal of Nanomedicine**, v. 7, p. 4679-4695, 2012;

WEISSLEDER, R.; MAHMOOD, U. Molecular imaging. **Radiology**, v. 219, n. 2, p. 316-333, 2001;

WILCZEWSKA, A. Z.; NIEMIROWICZ, K.; MARKIEWICZ, K. H.; CAR, H. Nanoparticles as drug delivery systems. **Pharmacological Reports**, v. 64, n. 5, p. 1020-1037, 2012;

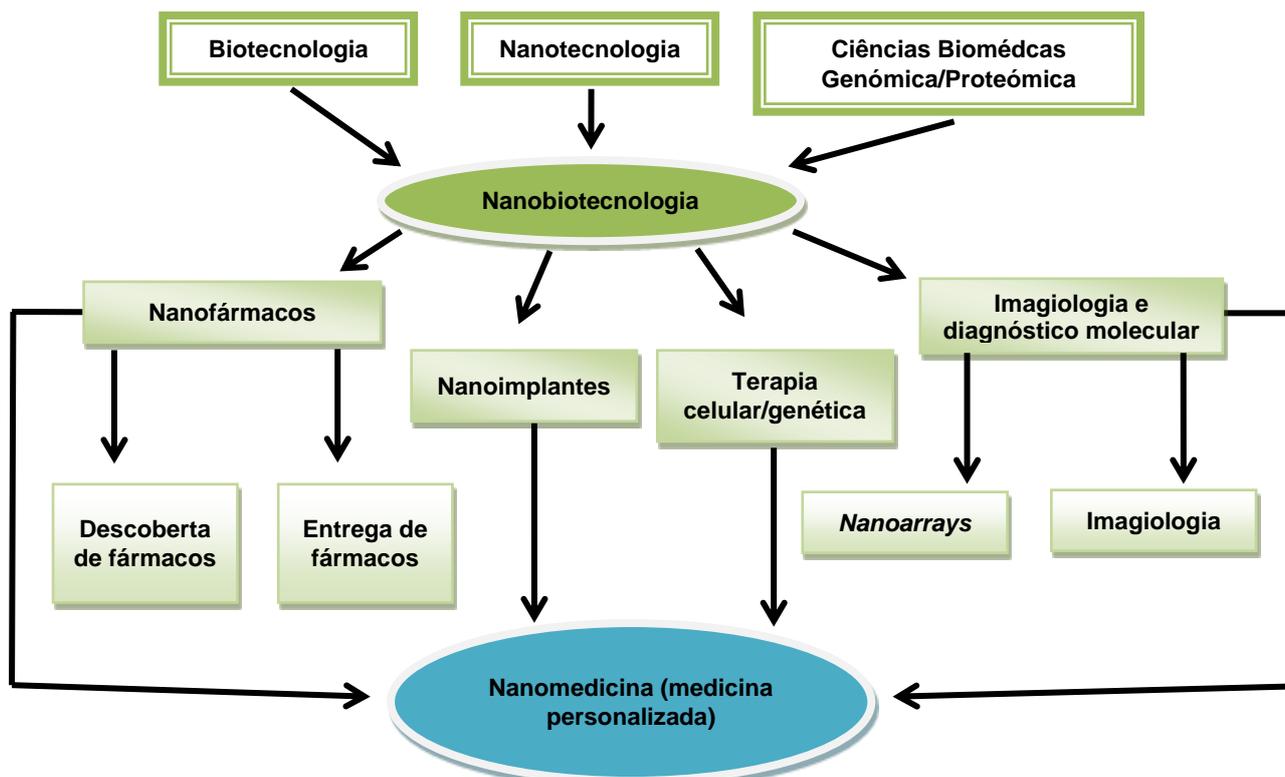
XIE, J.; LEE, S.; CHEN, X. - Nanoparticle-based

theranostic agents. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 62, n. 11, p. 1064-1079, 2010;

XU, W.; LING, P.; ZHANG, T. Polymeric micelles, a promising drug delivery system to enhance bioavailability of poorly water-soluble drugs. **Journal of Drug Delivery**, v. 2013, p. 340315, 2013;

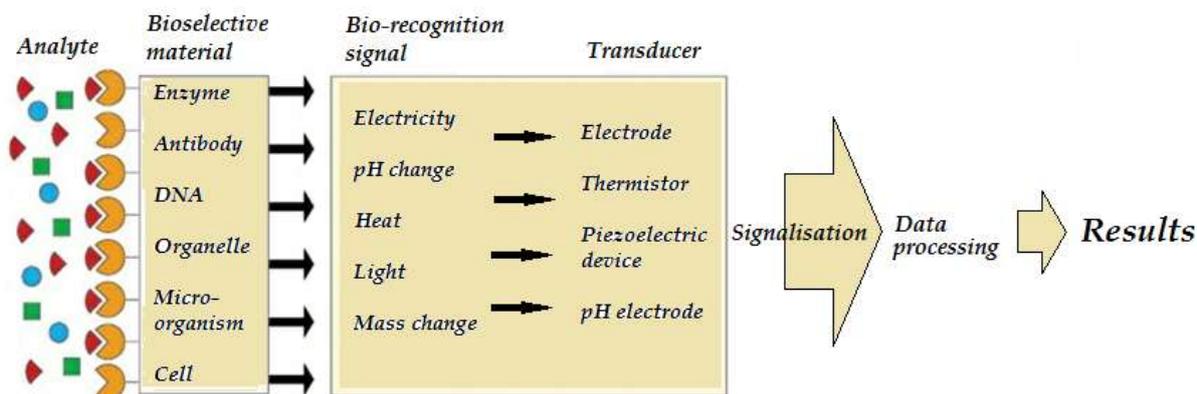
ZHENG, J. S.; ZUO, S. H.; LI, W. Q. Nanopore Technology and Its Applications. **Progress in Biochemistry and Biophysics**, v. 2, p. 202-205, 2001.

Figura 1 – Esquema representativo das várias aplicações da Nanomedicina.



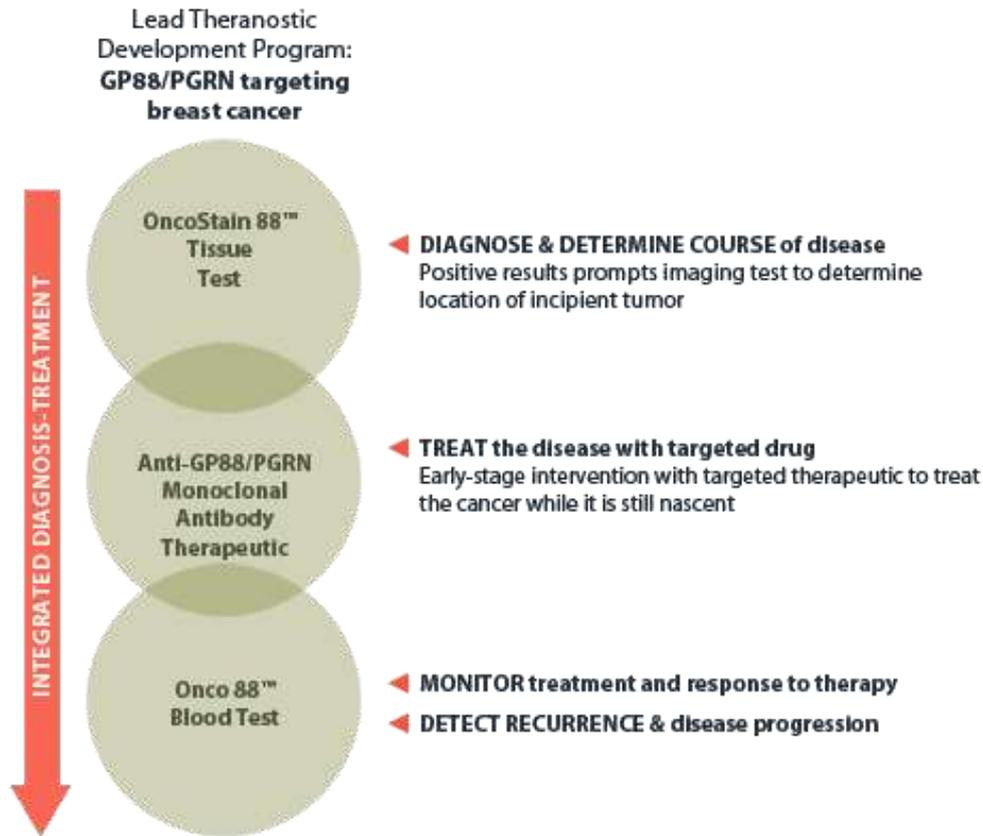
Fonte: adaptado de SAHOO, 2010.

Figura 2 - Esquema geral de um biossensor.



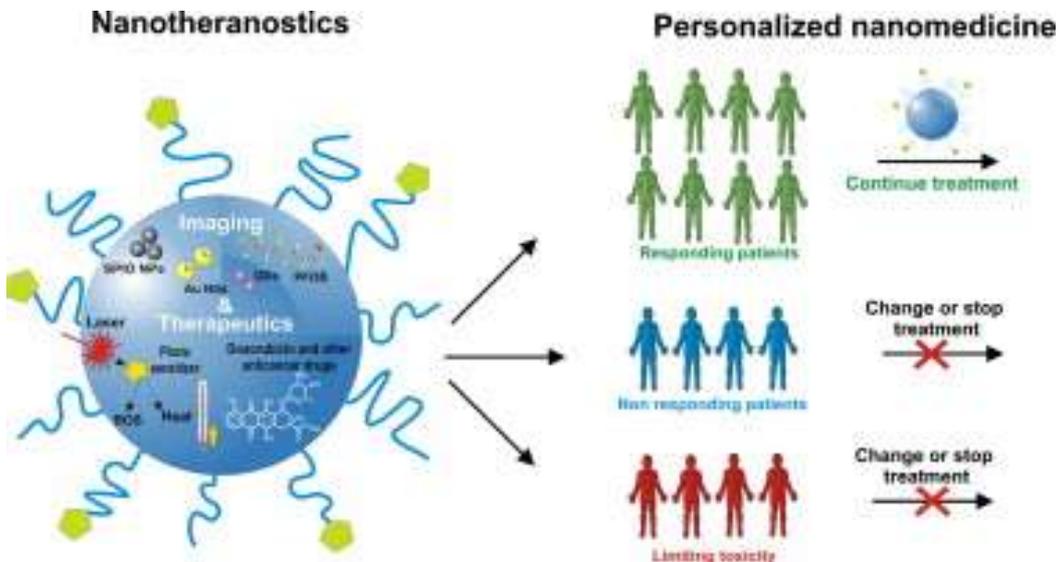
Fonte: Adaptado de KIVIRAND, KAGAN e RINKEN, 2013.

Figura 3 – Aplicações da tecnologia de *nanotheranostics*.



Fonte: adaptado de A & G Theranostics Products, 2009.

Figura 4 – Esquema geral da tecnologia de *nanotheranostics*.



Fonte: adaptado de MURA e COUVREUR, 2012.