


Carteiros notáveis

Partículas sintéticas reduzem toxicidade e ampliam ação de medicamentos contra câncer

Carlos Fioravanti

Uma rede de artérias, em representação artística



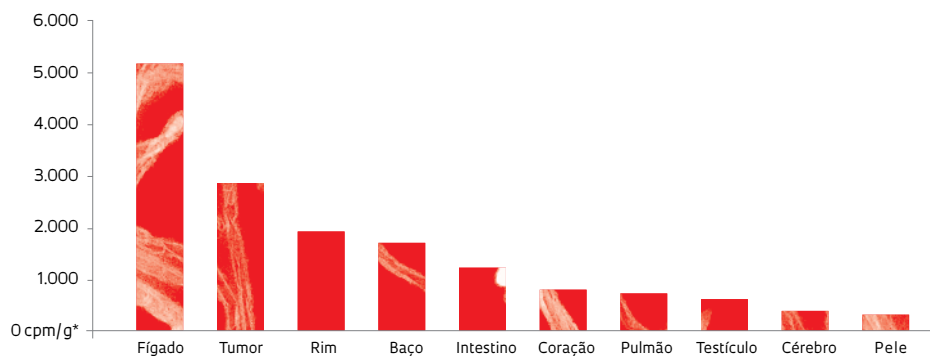
Vinte e um anos atrás, ao apresentar em revistas científicas nacionais e internacionais uma estratégia para tratamento de câncer com base em partículas compactas artificiais de colesterol, o médico Raul Maranhão não imaginava que encontraria tantas surpresas, decepções, reveses e desvios para levar sua proposta adiante. Passo a passo, ele fez experimentos em modelos animais, depois em grupos limitados de pessoas com câncer, e concluiu que as nanoemulsões lipídicas chamadas de LDE poderiam funcionar como uma plataforma de fármacos, capaz de levar medicamentos para alvos predefinidos e reduzir a toxicidade, um problema sério – e comum – nos antitumorais: muitas vezes os efeitos indesejados são intensos a ponto de limitar o uso, forçar a redução da dosagem e motivar a interrupção do tratamento. “Domesticamos alguns quimioterápicos”, diz Maranhão, com tranquilidade, no início deste ano, em sua sala no segundo subsolo do Instituto do Coração (InCor) da Universidade de São Paulo (USP).

Em seguida ele põe na tela do computador uma tabela que sintetiza os efeitos colaterais indesejados nas 46 pessoas tratadas com carmustina, um antitumoral de toxicidade elevada, combinada com as esferas de colesterol artificial. Com esse tratamento, os efeitos mais comuns, como náusea, vômito, alopecia (perda de cabelo), anemia, perda intensa de células de defesa e alterações hepáticas ou renais, avaliados em graus 1, 2 e 3, foram mínimos, mesmo em uma dosagem de 350 miligramas, quase três vezes maior que a normalmente adotada. “Não há dúvida de que os resultados são consistentes, sem perda da ação farmacológica”, comenta.

Fazer essas estratégias darem certo não é nada simples. Há uma batalha mundial para se reduzir a toxicidade de medicamentos, o que poderia significar mais opções terapêuticas para os médicos e menos mal-estar para as pessoas em tratamento. Equipes da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) e do Instituto Butantan também estão avançando com outros tipos de partículas que estão se mostrando eficazes para melhorar a ação

PRINCIPAIS DESTINOS

Concentração de partículas de colesterol (LDE) com taxol, marcadas com elementos radioativos, em tecidos ou órgãos de camundongos



*cpm/g: radioatividade das partículas por grama de tecido

FONTE: LABORATÓRIO DE LÍPIDES / INCOR-USP

de medicamentos ou de vacinas. Em cada caso, as novas combinações terão de passar por todos os testes de segurança e toxicidade em modelos animais e em seres humanos até – se apresentarem um desempenho satisfatório em todos os experimentos – serem aprovadas para uso amplo.

Maranhão teve de superar muitas dificuldades científicas, técnicas e burocráticas até ver que as esferas contendo medicamentos se concentravam nos tumores (*ver gráfico acima*) e seguir adiante. Ricas em colesterol, com uma estrutura semelhante à lipoproteína de baixa densidade (LDL) e diâmetro de 20 a 60 nanômetros (1 nanômetro corresponde a 1 milionésimo de milímetro), as LDE são captadas pelas células por meio dos receptores de LDL, abundantes nas células de tumores. “Enganamos as células tumorais ao oferecer uma matéria-prima de que necessitam para se multiplicar, junto com um fármaco que deve destruí-las”, diz ele.

Outros dois antitumorais, paclitaxel (taxol) e etoposídeo, deram mais trabalho para ser domesticados. Com Hélio Stefani, colega da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, Maranhão embebeu-os com ácido graxo, um tipo de gordura, para aumentar a adesão às esferas de LDE. “Nos testes em camundongos e em pessoas com câncer”, ele afirma, “a toxicidade diminuiu drasticamente”. Nem sempre dá certo. A toxicidade do metotrexato não caiu. “Não sei explicar por que, mas talvez seja possível reduzir a dosagem, já que a combinação com as LDE amplia a captação do medicamento pelas células tumorais.”

TESTES EM HOSPITAIS

Uma intensa produção científica e os resultados dos testes clínicos iniciais – realizados desde 1990 em cerca de 200 pessoas – serviram como argumento para dois estudos clínicos mais amplos,

em andamento em hospitais públicos da cidade de São Paulo. Em um deles, 23 pessoas com câncer de próstata, mama, ovário e pulmão, alguns já com metástase óssea, depois de passarem por outros tratamentos, estão recebendo taxol e LDE no Instituto do Câncer Arnaldo Vieira de Carvalho. Em dois homens, o nível de antígeno prostático específico (PSA) caiu de 100 para até 10 nanogramas por decilitro de sangue, indicando uma regressão do câncer de próstata após sete meses de tratamento, segundo Sílvia Graziani, médica do serviço de oncologia clínica do instituto. “Em câncer de ovário e de mama, verificamos uma estabilização da doença e uma melhora significativa do quadro clínico, devido à ausência de efeitos adversos comuns à quimioterapia”, diz ela. “Vi muitos pacientes almoçando enquanto faziam quimioterapia”, relata Maranhão. As medicações usadas para evitar o vômito, um efeito comum do tratamento, haviam sido dispensadas.

“As LDE têm alta afinidade por tecidos inflamados ou áreas de intensa divisão celular”, diz Maranhão. Essa característica levou a outras possibilidades de uso, como para tratar aterosclerose, uma doença inflamatória crônica caracterizada pelo acúmulo de placas de gordura em veias e artérias. Em um dos experimentos, artérias de coelhos com placas de colesterol, de modo similar aos tumores, captaram três vezes mais LDE que os outros tecidos ou órgãos. “As LDE com paclitaxel limpam a artéria de coelhos”, diz ele, mostrando uma sucessão de fotos e gráficos. As informações que ele reuniu serviram como argumentos para testar a segurança de uso de uma combinação de taxol com LDE em um grupo de 10 pessoas selecionadas em tratamento no Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, em São Paulo. Os resultados, detalhados em um artigo em fase final de ela-

boração, indicaram que essa estratégia pode reduzir a inflamação que acompanha a formação de placas de gordura nas artérias coronárias em pessoas que já haviam sofrido um infarto. “Quase zeramos a toxicidade”, ele celebra. As evidências impressionam também porque abrem a possibilidade de usar um antitumoral, o taxol, para tratar doenças cardíacas.

Nanotubos de carbono ativaram células de defesa e ampliaram as respostas contra antígenos

NOVAS VACINAS À VISTA

As partículas que transportam medicamentos podem fazer mais do que se esperam delas e alterar outras características que dificultam o uso de medicamentos. Na Unicamp, a equipe do químico Oswaldo Alves aparentemente conseguiu eliminar uma limitação da camptotecina, antitumoral difícil de ser aplicado por ser insolúvel, de acordo com os testes em células tumorais feitos na Universidade Federal de São Paulo (Unifesp).

“Fizemos uma suspensão com nanopartículas de sílica e a camptotecina entrou nas células como se fosse solúvel”, observa Amauri Jardim de Paula, pesquisador do grupo de Alves. “Hoje podemos sintetizar nanoestruturas com um alto controle das propriedades química e física da superfície e do interior, de modo que a superfície consiga atrair e o interior repelir as moléculas de água.”

No artigo de capa da *Journal of the Brazilian Chemical Society* de outubro de 2012, Alves apresentou uma indicação importante da segurança de uso das nanopartículas mesoporosas de sílica: essas nanoestruturas não destroem as hemácias

do sangue em condições reais, imersas no plasma, independentemente da carga elétrica da superfície das partículas; estudos anteriores, feitos em uma solução de células, haviam sugerido que poderiam destruir.

Um tipo de sílica porosa nanoestruturada chamada SBA-15 está se mostrando eficaz para transportar vacinas por via oral, de acordo com

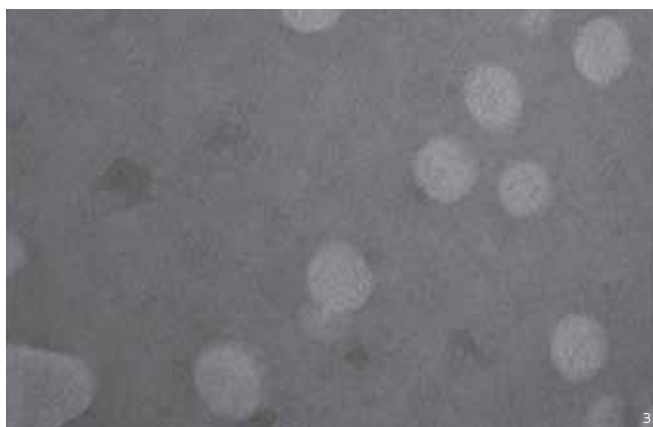
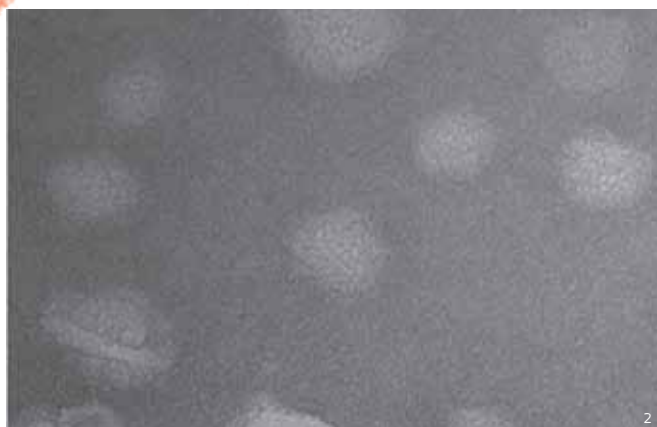
estudos realizados desde 2002 em colaboração com o Instituto Butantan, a Universidade de São Paulo e o Laboratório Cristália. Testes com a vacina contra hepatite B em camundongos indicaram que antígenos virais transportados pelas esferas de sílica conseguem atravessar o ambiente extremamente ácido do estô-

mago, ao qual a maioria das proteínas não resiste, e ser absorvidos no intestino.

“Estamos agora na fase de planejamento dos testes em voluntários humanos”, diz Osvaldo Sant’Anna, pesquisador do Butantan que está entusiasmado com a possibilidade de ampliar a vacinação por via oral, limitada à Sabin, contra poliomielite. Ele acredita que, se os testes avançarem com resultados positivos, as partículas de sílica poderiam levar mais de uma vacina por vez, de modo mais amigável ao organismo que as técnicas atuais de aplicação (injeções), e permitir uma economia considerável, por dispensar o uso de agulhas e seringas, ampliar o número de pessoas vacinadas, possibilitando uma aplicação de doses menores que as atuais.

Diego Stéfani Teodoro Martinez, da equipe de Alves, preparou nanotubos de carbono com 10 a 40 nanômetros de diâmetro e até 10 micrômetros de comprimento embebidos em antígenos. Essa combinação ampliou a resposta do organismo, em comparação com a induzida apenas por antígenos, em testes preliminares feitos em camundongos no Butantan, em parceria com Sant’Anna. “Os nano-

Veículos especiais: nanotubos de carbono purificados (em vermelho) e nanoemulsão lipídica sozinha (esquerda) e com metotrexato (direita)





tubos aparentemente têm um efeito imunoesestimulante”, diz Martinez, “porque possivelmente ativaram os macrófagos, um tipo de célula de defesa, e a liberação de citocinas”, as moléculas de comunicação do sistema imune.

Outras combinações de transportadores e fármacos também podem levar a resultados impressionantes. Grupos da Unicamp, USP e Unesp coordenados por Wagner Fávaro e Nelson Duran, ambos da Unicamp, conseguiram reduzir em cerca de 10 vezes a dosagem do fármaco imunomodulador P-Mapa, sem perda de eficácia contra câncer de bexiga, usando um polímero comercial conhecido como poloxâmero ou Pluronic, em testes preliminares feitos em modelos animais.

“O Pluronic deve ter facilitado a entrada do P-Mapa na camada de células que reveste internamente a bexiga urinária”, comenta Fávaro. “É um resultado excelente.” Esse efeito, se confirmado nos estudos em andamento, pode permitir uma notável economia do medicamento e melhorar sua ação, além de reduzir o risco de eventuais efeitos tóxicos; o P-Mapa e as esferas de LDE aparentemente não geram reações hostis nem apresentam riscos para a saúde, de acordo com os testes feitos até agora.

Em estudos feitos na Unicamp e na Universidade do Estado do Colorado, Estados Unidos, com financiamento da rede de pesquisa Farmabrasilis, da FAPESP, do Conselho Nacional de Desenvolvimento

Científico e Tecnológico (CNPq), dos Institutos Nacionais de Saúde (NIH) dos Estados Unidos e da Unesp de Botucatu, o P-Mapa se mostrou capaz de deter a progressão do câncer de bexiga e reduzir o crescimento de colônias de bactérias causadoras de tuberculose em modelo animal. Em estudos com ratos portadores de câncer de bexiga, o P-Mapa apresentou uma eficácia superior à da vacina BCG, o melhor tratamento disponível contra essa doença, como detalhado em um artigo publicado em junho de 2012 na *Infectious Agents and Cancer*.

Os resultados que agora parecem simples nasceram de decisões difíceis. Em 2006 Oswaldo

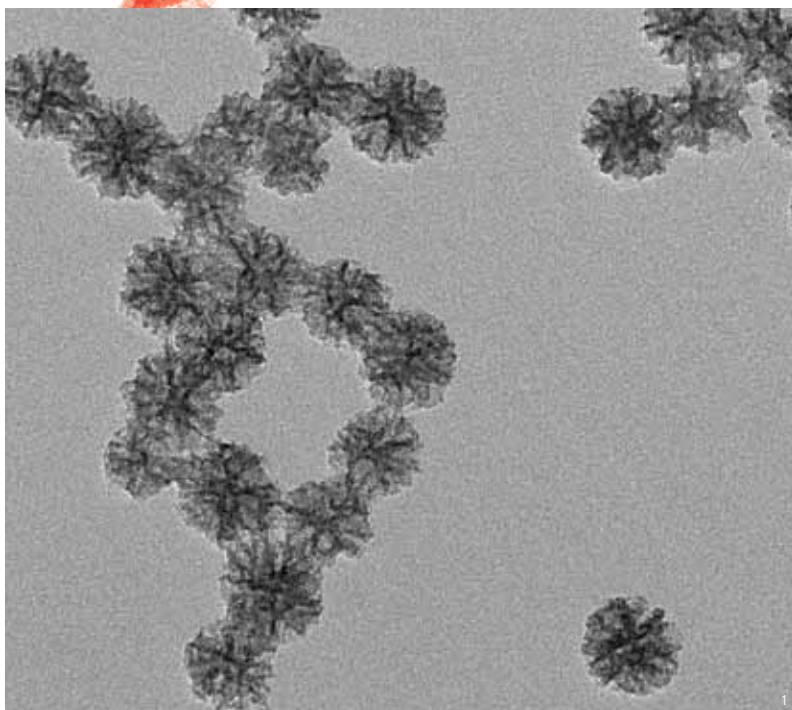
Alves se viu diante da seguinte dúvida: deveria comprar ou sintetizar nanotubos de carbono? Ele comprou, mas notou que não era uma substância pura, como deveria ser, e começou a desconfiar dos resultados – positivos ou negativos – dos experimentos, sem saber se eram decorrentes da ação dos nanotubos ou das impurezas.

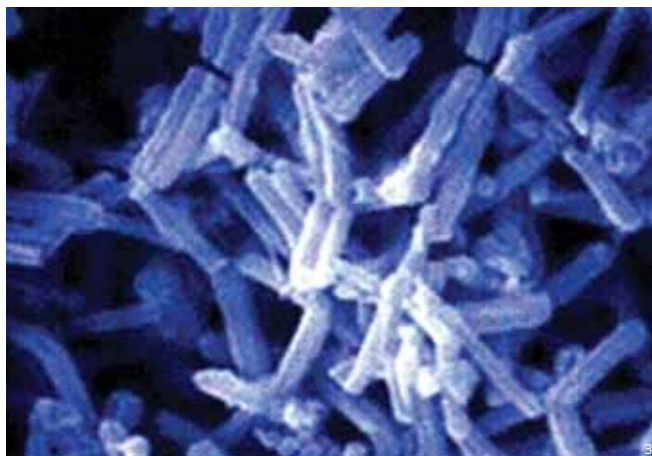
“A pureza tem sido um assunto negligenciado”, diz ele. “Por causa da pressa em publicar os resultados, quase ninguém está questionando a origem das amostras de nanoestruturas utilizadas nos experi-

“Quase ninguém está questionando a origem e a pureza das amostras de nanoestruturas utilizadas nos experimentos”, diz Alves

mentos, apenas supondo que sejam puras.” Alves, com seu grupo, desenvolveu suas próprias técnicas de purificação e hoje remove 98% dos resíduos metálicos e carbonáceos dos nanomateriais importados. A substância resultante da purificação no Laboratório de Química do Estado Sólido da Unicamp é diferente da original a ponto de ter ganhado os nomes de LQES-1 e LQES-2. Outro desafio permanente, segundo ele, é “identificar outros químicos, físicos, biólogos e médicos que queiram trabalhar com nanoestruturas e acreditem que é possível fazer ciência brasileira de qualidade”.

“Sozinhos, não conseguimos avançar”, reitera Maranhão, que também passou por muitos dilemas. Um deles: onde publicar os resultados? Se divulgasse demais, procurando as revistas mais lidas, poderia ser atropelado por outros grupos, que poderiam avançar com mais rapidez. Deixar de publicar era inviável porque são os artigos científicos que conferem credibilidade e visibilidade a qualquer pesquisador. A saída que ele encontrou foi publicar em revistas médicas de impacto médio, “sem muito alarde”.





Dois tipos de nanopartículas mesoporosas de sílica: a da Unicamp, com poros que repelem água e superfície que a atrai (na página ao lado); e a do Butantan-USP, com poros hexagonais (acima, esquerda) e em forma de tubos cilíndricos (direita)

Quando ele começou, não havia lei de patentes para novos fármacos, nem o conceito de nanotecnologia médica, nem empresas nacionais interessadas em desenvolver medicamentos nacionais no país. Ele tentou algumas estrangeiras, com a esperança de encontrar parceiros que o ajudassem na produção e no desenvolvimento das nanopartículas, mas as fusões e aquisições de empresas interromperam as negociações. Ele próprio viu que teria de produzir e instalou um laboratório de produção ao lado de sua sala no InCor e pagou uma fortuna por quimioterápicos importados até os indianos e chineses começaram a vender por preços bem menores. “É um jogo de xadrez”, ele diz. “Muitas vezes, a estratégia precede a ciência.”

A PRÓXIMA BATALHA

Maranhão teve de entrar em áreas que não conhecia e formar equipes, outro risco, porque o ritmo de trabalho e o rigor metodológico dos integrantes de um grupo podem divergir. “Por sorte nunca tive problemas com meus colaboradores”, ele assegura, “e devo muito a meus colegas médicos e professores, como Sílvia Graziani, Noedir Stolf, Vânia Hungria, Eloisa Bonfá, Roberto Hegg, Jesus Carvalho, Durvanei Maria e muitos outros que têm colaborado nesse projeto há muitos anos e fazem um trabalho de altíssima qualidade”.

Ele conta que teve problemas, sim, com os pareceristas necessariamente anônimos de seus pedidos de financiamento, que criticavam a falta de foco, já que ele explorava outras aplicações médicas das LDE, ou pediam detalhes que ele não tinha nem o preocupavam. “Somos nossos próprios algozes”, comentou outro professor da USP, que acompanha o trabalho de Maranhão há anos.

Para quem descobriu uma molécula aparentemente fantástica e acha que as etapas seguintes da pesquisa e desenvolvimento serão simples, Maranhão avisa: “Não se deve ficar afoito. Se quiser mesmo topa essa parada, tem de estar

preparado para a longa jornada”. A dele ainda não terminou. A próxima batalha à vista será a do registro das combinações das LDE com medicamento nos órgãos reguladores do governo.

“Nos Estados Unidos”, ele diz, “diante do que já temos de argumentação científica e médica e da urgência de novos medicamentos contra câncer, nosso pedido de registro poderia entrar como *fast track*, tranquilamente”. *Fast track* é um caminho rápido e simplificado de aprovação de novos medicamentos adotado pelo governo federal dos Estados Unidos. No Brasil não há *fast track* e o processo de registro costuma exigir muita papelada e tomar muitos anos até sair o carimbo final. Uma empresa nacional relatou ter enviado 70 quilos de documentos ao órgão responsável por essa área em Brasília e esperado sete anos até sair o registro de um medicamento brasileiro similar ao Viagra. ■

Projetos

1. Nanopartículas lipídicas: aplicações no estudo da fisiopatologia, no diagnóstico e terapêutica das doenças degenerativas – nº 06/58917-3; **2.** Novas estratégias terapêuticas para o câncer de bexiga urinária não músculo invasivo – nº 12/20706-2; **3.** Produção de nanoestruturas mesoporosas à base de sílica para o transporte de agentes antitumorais hidrofóbicos – nº 09/10056-8. **Modalidades:** **1.** Projeto Temático; **2.** Linha Regular de Auxílio a Projeto de Pesquisa; **3.** Doutorado. **Coordenadores:** **1.** Raul Cavalcante Maranhão – USP; **2.** Wagner José Fávoro – Unicamp; **3.** Amauri Jardim de Paula – Unicamp. **Investimento:** **1.** R\$ 1.406.940,52 (FAPESP); **2.** R\$ 133.260,00 (FAPESP); **3.** R\$ 110.201,13 (FAPESP)

Artigos científicos

FÁVARO, W.J. *et al.* Effects of P-Mapa immunomodulator on toll-like receptors and p53: potential therapeutic strategies for infectious diseases and cancer. **Infectious Agents and Cancer.** v. 7, n. 14.2012 (on line).

KRETZER, I.F. *et al.* Drug-targeting in combined cancer chemotherapy: tumor growth inhibition in mice by association of paclitaxel and etoposide with a cholesterol-rich nanoemulsion. **Cellular Oncology.** v. 35, n. 6, p. 451-60. 2012.

PAULA, A.J. *et al.* Suppression of the hemolytic effect of mesoporous silica nanoparticles after protein corona interaction: independence of the surface microchemical environment. **Journal of the Brazilian Chemical Society.** v. 23, n. 10, p. 1.807-14. 2012.