

Mensajeros poderosos

Partículas sintéticas reducen la toxicidad y amplían la acción de los medicamentos contra el cáncer

Carlos Fioravanti

PUBLICADO EN FEBRERO DE 2013

Representación artística de una red de arterias



Hace veintiún años, al presentar en revistas científicas nacionales e internacionales una estrategia para el tratamiento del cáncer basada en partículas compactas artificiales de colesterol, el médico Raul Maranhão no imaginaba que afrontaría tantas sorpresas, decepciones, reveses y desvíos para llevar a cabo su propuesta. Paso a paso, experimentó primero con animales, después con grupos limitados de gente con cáncer, y arribó a la conclusión de que las nanoemulsiones lipídicas denominadas LDE podrían funcionar como una plataforma de fármacos capaz de transportar medicamentos hacia objetivos definidos reduciendo su toxicidad, un grave problema –y también frecuente– en los antitumorales: generalmente los efectos indeseables son intensos a punto tal de limitar su utilización, forzar la reducción de las dosis y motivar la interrupción del tratamiento. “Domesticamos algunos quimioterapéuticos”, dice ahora Maranhão con tranquilidad, al comienzo de este año, en su oficina del segundo subsuelo del Instituto del Corazón (InCor) de la Universidad de São Paulo (USP).

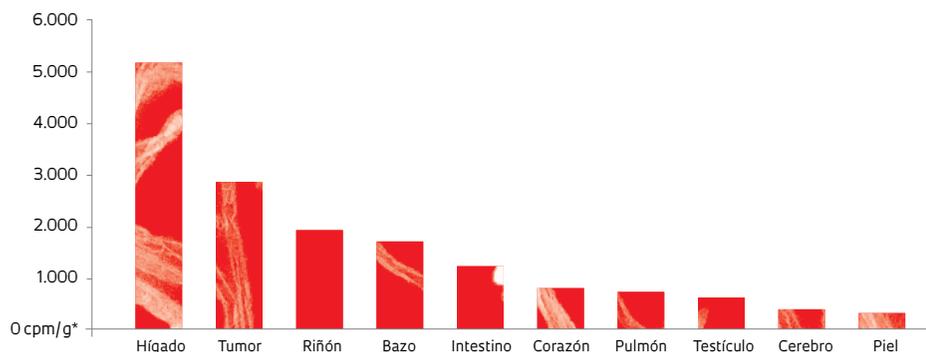
Acto seguido, muestra en la pantalla de la computadora una tabla que sintetiza los efectos co-

laterales indeseables en los 46 individuos tratados con carmustina, un antitumoral con elevada toxicidad, combinado con las esferas de colesterol artificial. Con este tratamiento, los efectos más comunes, tales como náuseas, vómitos, alopecia (caída del cabello), anemia, profusa disminución de las células defensivas y alteraciones hepáticas o renales, que se evalúan en grados 1, 2 y 3, fueron mínimos, incluso con una dosis de 350 miligramos, que es casi tres veces mayor que la normalmente adoptada. “No quedan dudas de que los resultados son consistentes, sin pérdida del efecto farmacológico”, comenta.

No es sencillo lograr que esas estrategias sean eficaces. Se libra una batalla mundial para reducir la toxicidad de los medicamentos, lo cual podría significar contar con más opciones terapéuticas para los médicos y menores molestias para los pacientes en tratamiento. Equipos de la Universidad de Campinas (Unicamp) y del Instituto Butantan también están logrando avances con otros tipos de partículas que se están revelando eficaces para mejorar el efecto de medicamentos o de vacunas. En cada caso, las nuevas combinaciones deberán sortear todas las pruebas de seguridad y toxicidad

PRINCIPALES DESTINOS

Concentración de partículas de colesterol (LDE) con taxol, marcadas con elementos radioactivos, en tejidos u órganos de ratones



*cpm/ g: radioactividad de las partículas por gramo de tejido

FUENTE LABORATORIO DE LÍPIDOS/ INCOR-USP

en modelos animales y ensayos en seres humanos hasta que –si presentan un desempeño satisfactorio en todos los experimentos– sean aprobadas para su uso masivo.

Maranhão tuvo que superar muchas dificultades científicas, técnicas y burocráticas hasta verificar que las esferas que contenían medicamentos se concentraban en los tumores (*observe el gráfico en la parte superior*) y poder seguir adelante. Ricas en colesterol, con una estructura similar a la lipoproteína de baja densidad (LDL) y un diámetro de 20 a 60 nanómetros (1 nanómetro equivale a una millonésima de milímetro), las LDE son capturadas por las células mediante los receptores de LDL, abundantes en las células tumorales. “A las células tumorales las engañamos al ofrecerles una materia prima que precisan para multiplicarse, adosada a un fármaco que las destruye”, dice.

Otros dos antitumorales, el paclitaxel (taxol) y el etopósido, fueron más difíciles de domesticar. Junto con Hélio Stefani, colega de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas de la USP, Maranhão los impregnó con ácido graso, un tipo de lípido, para aumentar la adherencia a las esferas de LDE. “En ensayos con ratones y en pacientes con cáncer”, informa, “la toxicidad disminuyó drásticamente”. Pero no siempre resulta así. La toxicidad del metotrexato no disminuyó. “No puedo explicar por qué, pero tal vez sea posible reducir la dosis, puesto que la combinación con las LDE eleva la captación del medicamento por las células tumorales”.

ENSAYOS EN HOSPITALES

Una producción científica prolífica y los resultados de los ensayos clínicos iniciales –realizados a partir de 1990 en alrededor de 200 personas– sirvieron como argumento para dos estudios clínicos más amplios, en curso en hospitales públicos de la ciudad de São Paulo. En uno de ellos, 23 pacientes

con cáncer de próstata, mama, ovario y pulmón, algunos ya con metástasis ósea, luego de pasar por otros tratamientos, están recibiendo taxol y LDE en el Instituto del Cáncer Arnaldo Vieira de Carvalho. En dos individuos, el nivel de antígeno prostático específico (PSA) descendió de 100 a 10 nanogramos por decilitro de sangre, indicando una remisión del cáncer de próstata luego de siete meses de tratamiento, apunta Silvia Graziani, médica del servicio de oncología clínica del instituto. “En cánceres de ovario y de mama, constatamos una estabilización de la enfermedad y una mejoría significativa del cuadro clínico, debido a la ausencia de efectos adversos comunes en la quimioterapia”, dice. “Observé a varios pacientes almorzando mientras hacían quimioterapia”, relata Maranhão. Las medicinas suministradas para evitar los vómitos, un efecto frecuente del tratamiento, habían sido suprimidas.

“Las LDE presentan alta afinidad con los tejidos inflamados y áreas con intensa división celular”, dice Maranhão. Esta característica condujo a otras posibilidades de uso, tales como el tratamiento de la aterosclerosis, una afección inflamatoria crónica que se caracteriza por la acumulación de placas de grasa en venas y arterias. En uno de los experimentos, las arterias de conejos con placas de colesterol, en forma similar a los tumores, captaron tres veces más cantidad de LDE que otros tejidos u órganos. “Las LDE con paclitaxel limpiaron las arterias de los conejos”, añade, mostrando una serie de fotografías y gráficos. La información que recabó sirvió como argumento para probar la seguridad del uso de una combinación de taxol con LDE en un grupo de 10 personas seleccionadas en tratamiento en el Instituto Dante Pazzaneze de Cardiología, en São Paulo. Los resultados, descritos en un artículo en fase final de elaboración, señalaron que esa estrategia puede reducir la inflamación aliada a

la formación de placas grasas en las arterias coronarias de individuos que ya sufrieron un infarto. “Disminuimos casi a cero la toxicidad”, festeja. Las

superficie de las partículas; estudios previos, llevados a cabo en una solución de células, sugerían que podrían destruirlos.

Nanotubos de carbono activaron células de defensa y amplificaron las respuestas contra antígenos

evidencias también sorprenden porque implican la posibilidad de utilizar un antitumoral, el taxol, para el tratamiento de enfermedades cardíacas.

NUEVAS VACUNAS A LA VISTA

Las partículas que transportan fármacos pueden lograr más de lo que se espera de ellas y alterar otras características que dificultan el uso de medicamentos. En la Unicamp, el equipo del químico Oswaldo Alves aparentemente consiguió eliminar una limitación de la camptotecina, un antitumoral de difícil aplicación por ser insoluble, según las pruebas en células tumorales, realizadas en la Universidad Federal de São Paulo (Unifesp).

“Elaboramos una suspensión con nanopartículas de sílice y la camptotecina ingresó a las células como si fuese soluble”, afirma Amauri Jardim de Paula, investigador del grupo de Alves. “Actualmente podemos sintetizar nanoestructuras con un alto control de las propiedades químicas y físicas en su superficie y su interior, de modo tal que la superficie logre atraer y el interior repeler a las moléculas de agua”.

En el artículo estampado en la portada de la edición de octubre de la revista *Journal of the Brazilian Chemical Society*, Alves presentó una importante prescripción de seguridad para el uso de las nanopartículas mesoporosas de sílice: esas nanoestructuras no destruyen a los hematíes de la sangre en condiciones reales, inmersas en el plasma, independientemente de la carga eléctrica de la

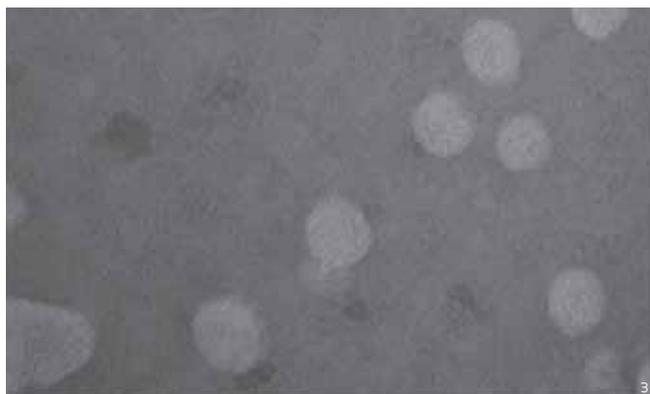
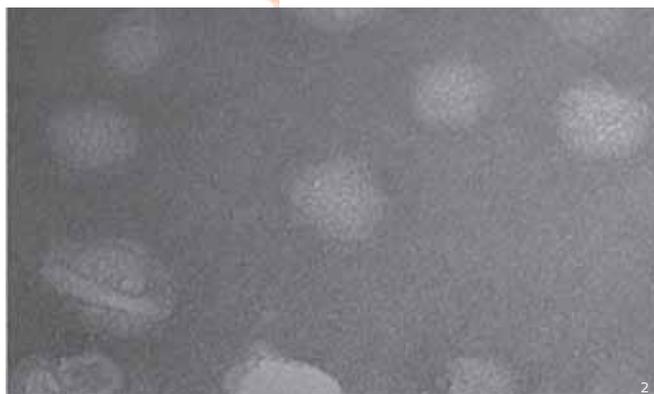
los antígenos virales transportados por las esferas de sílice logran atravesar el medio extremadamente ácido del estómago, donde la mayoría de las proteínas no resisten, y son absorbidos en el intestino.

“Ahora estamos en la fase de planificación de los ensayos con voluntarios humanos”, dice Oswaldo Sant’Anna, investigador del Butantan que se encuentra entusiasmado con la posibilidad de ampliar la vacunación por vía oral, hoy limitada a la Sabin, contra la poliomielitis. Él considera que, si los ensayos avanzan con resultados positivos, las partículas de sílice podrían transportar más de una vacuna por vez, en forma más amena para el organismo que las actuales técnicas de aplicación (inyecciones), permitiendo una economía considerable, al prescindir del uso de agujas y jeringas, elevando la cantidad de personas vacunadas y posibilitando aplicar dosis menores que las actuales.

Diego Stéfani Teodoro Martinez, del equipo de Alves, preparó nanotubos de carbono de 10 a 40 nanómetros de diámetro y hasta 10 micrones de longitud embebidos en antígenos. Esa combinación elevó la respuesta del organismo, en comparación con la inducida tan sólo por los antígenos, en pruebas preliminares realizadas con ratones en el Instituto Butantan, con la colaboración de Sant’Anna. “Aparentemente, los nanotubos brindan un efecto inmunoestimulante”, dice Martinez, “pues posiblemente activaron macrófagos, un tipo de células defensivas, así como la libe-

Un tipo de sílice porosa nanoestructurada denominada SBA-15 se está revelando eficaz para transportar vacunas por vía oral, según estudios conjuntos realizados desde 2002 con el Instituto Butantan, la Universidad de São Paulo y el laboratorio Cristália. Los test en ratones con la vacuna contra la hepatitis B, indicaron que

Vehículos especiales: nanotubos de carbono purificados (en rojo) y nanoemulsión lipídica pura (izquierda) y con metotrexato (derecha)





ración de citosinas”, que son las moléculas de comunicación del sistema inmunológico.

Otras combinaciones de transportadores y fármacos también pueden conducir a resultados impresionantes. Grupos de la Unicamp, la USP y la Unesp, coordinados por Wagner Fávaro y Nelson Duran, ambos de la Unicamp, lograron reducir alrededor de 10 veces la dosis de la droga inmunomoduladora P-Mapa, sin perder su eficacia contra el cáncer de vejiga, utilizando un polímero comercial conocido con el nombre de poloxámero o Pluronic, en test preliminares realizados con modelos animales.

“El Pluronic habría facilitado el ingreso del P-Mapa en la capa de células que revisita internamente la vejiga urinaria”, comenta Fávaro. “Es un resultado excelente”. Si tal efecto se confirma en los estudios en curso, puede permitir una notable economía del medicamento y mejorar su acción, más allá de reducir el riesgo de eventuales efectos tóxicos; aparentemente, el P-Mapa y las esferas de LDE no generan reacciones adversas ni presentan riesgos para la salud, según las pruebas llevadas a cabo hasta ahora.

En estudios realizados en la Unicamp y en la Universidad del Estado de Colorado, en Estados Unidos, con financiación aportada por la red de investigación Farmabrasilis, de la FAPESP, el Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (CNPq), los Institutos Na-

cionales de Salud (NIH) de Estados Unidos y la Unesp de Botucatu, el P-Mapa se reveló capaz de detener la progresión del cáncer de vejiga y reducir el crecimiento de colonias de bacterias causantes de tuberculosis en el modelo animal. En estudios con ratas portadoras de cáncer de vejiga, el P-Mapa mostró una eficacia superior a la de la vacuna BCG, el mejor tratamiento disponible contra ese mal, tal como lo describe un artículo publicado en junio de 2012 en la revista *Infectious Agents and Cancer*.

Los resultados que ahora parecen sencillos nacieron de decisiones difíciles. En 2006, Oswaldo Alves se topó con la siguiente disyuntiva: ¿debería comprar o sintetizar

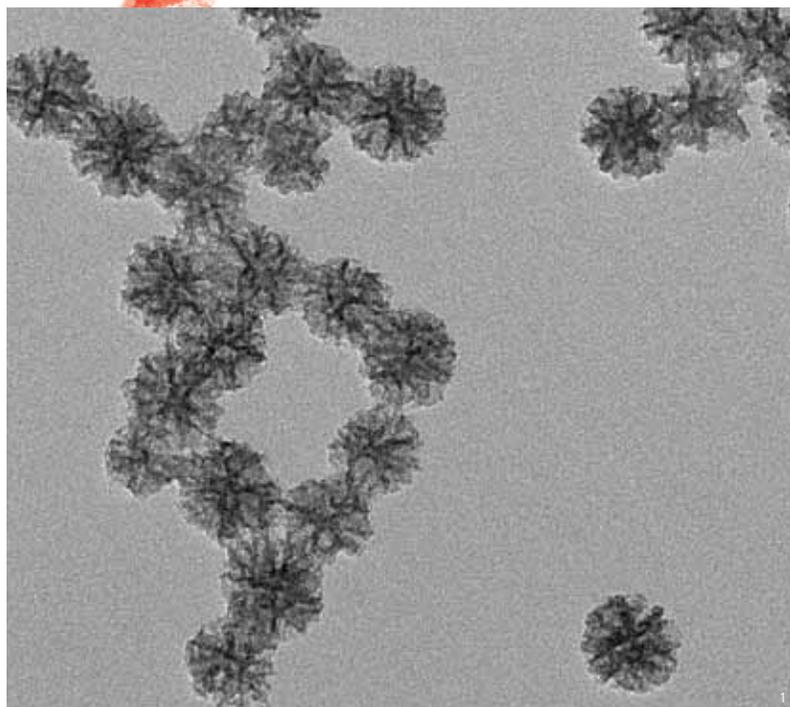
nanotubos de carbono? Los adquirió, pero notó que no era una sustancia pura, como debía serlo, y empezó a desconfiar de los resultados –positivos o negativos– de los experimentos, sin saber si eran producto de la acción de los nanotubos o de las impurezas.

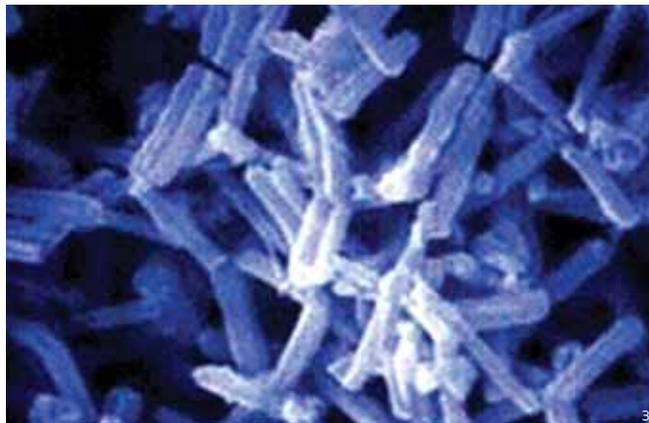
“La pureza ha sido un tema soslayado”, dice. “A causa de la urgencia por publicar los resultados, casi nadie está cuestionando el origen de las muestras de nanoestructuras utilizadas en los experimentos, tan sólo suponiendo que sean puras”.

Alves y su grupo desarrollaron sus propias técnicas de purificación y actualmente extraen el 98% de los residuos metálicos y carbonados de los nanomateriales importados. La sustancia resultante de la purificación en el Laboratorio de Química de Estado Sólido de la Unicamp es diferente de la original hasta el punto de haber sido nombrada LQES-1 y LQES-2. Otro desafío permanente, según él, consiste en “identificar a otros químicos, físicos, biólogos y médicos que deseen trabajar con nanoestructuras y consideren que es posible hacer ciencia brasileña de calidad”.

“Aislados, no podremos avanzar”, reitera Maranhão, quien también enfrentó varios dilemas. Uno de ellos: ¿dónde publicar los resultados? Si divulgaba demasiado, buscando las revistas más leídas, podría ser atropellado por otros grupos, que podrían avanzar con mayor rapidez. Dejar de publicar era inviable, porque son los artículos científicos los que confieren credibilidad y visibilidad a cualquier investigador. La solución que encontró fue publicar en revistas médicas con mediano impacto, “sin hacer mucho alarde”.

“Casi nadie repara en el origen y la pureza de las muestras de nanoestructuras utilizadas en los experimentos”, dice Alves





Dos tipos de nanopartículas mesoporosas de sílice: la de la Unicamp, con poros que repelen el agua y superficie que la atrae (en la página de al lado); y la del Butantan-USP, con poros hexagonales (arriba, a la izquierda) y en forma de tubos cilíndricos (a la derecha)

Cuando comenzó, no había ley de patentes para los nuevos fármacos, ni existía el concepto de nanotecnología médica, ni empresas nacionales interesadas en desarrollar medicamentos nacionales en el país. Lo intentó con algunas extranjeras, con la esperanza de hallar socios que lo ayudaran en la producción y el desarrollo de las nanopartículas, pero las fusiones y adquisiciones de empresas interrumpieron las negociaciones. Notó que tendría que producirlos él mismo y montó un laboratorio de producción junto a su oficina en el InCor, y pagó una fortuna por quimioterapéuticos importados hasta que los indios y chinos comenzaron a venderlos a precios mucho menores. “Es como una partida de ajedrez”, dice. “A menudo, la estrategia precede a la ciencia”.

LA PRÓXIMA BATALLA

Maranhão tuvo que internarse en áreas que no conocía y formar equipos, otro riesgo, porque el ritmo de trabajo y el rigor metodológico de los integrantes de un grupo pueden discrepar. “Por suerte nunca tuve problemas con mis colaboradores”, asegura, “y les debo mucho a mis colegas médicos y profesores, como son Silvia Graziani, Noedir Stolf, Vânia Hungria, Eloisa Bonfá, Roberto Hegg, Jesus Carvalho, Durvanei Maria y muchos otros que han colaborado en este proyecto desde hace muchos años y realizan un trabajo de altísima calidad”.

Él relata que tuvo dificultades, por supuesto, con los dictaminadores necesariamente anónimos de sus pedidos de financiación, que criticaban la falta de foco, ya que exploraba otras aplicaciones médicas de las LDE, o le solicitaban detalles que no tenía ni le preocupaban. “Somos nuestros propios verdugos”, comentó otro profesor de la USP, quien sigue el trabajo de Maranhão desde hace años.

A quienes descubren una molécula en apariencia maravillosa y creen que las siguientes etapas de la investigación y desarrollo serán sencillas, Maranhão les anticipa: “No hay que precipitarse. Si aun así desean continuar, deben prepararse para un arduo trabajo”. El suyo todavía no ha fi-

nalizado. La próxima batalla en ciernes consistirá en el registro de las combinaciones de las LDE con medicamentos en las organizaciones reguladoras del gobierno.

“En Estados Unidos”, dice, “con lo que ya contamos de argumentación científica y médica y dada la urgencia por nuevos fármacos contra el cáncer, nuestra solicitud de registro podría ingresar como *fast track*, tranquilamente”. *Fast track* es una ruta rápida y simplificada para aprobar nuevos medicamentos adoptada por el gobierno federal de Estados Unidos. En Brasil, no existe tal disposición y el proceso de registro generalmente exige mucho papeleo y lleva varios años hasta que se logra el sello final. Una empresa nacional refirió haber enviado 70 kilos de documentación al organismo responsable del área en Brasilia y una espera de siete años hasta que salió el registro de un medicamento brasileño similar al Viagra. ■

Proyectos

1. Nanopartículas lipídicas: aplicaciones en el estudio de la fisiopatología, diagnóstico y terapéutica de las enfermedades degenerativas – n° 06/ 58917-3; **Modalidades** Proyecto Temático Coordinadores Raul Cavalcante Maranhão – USP; **Inversión** R\$ 1.406.940,52 (FAPESP);
2. Nuevas estrategias terapéuticas para el cáncer de vejiga urinaria no músculo-invasivo – n° 12/ 20706-2; **Modalidades** Línea Regular de Ayuda al Proyecto de Investigación **Coordinadores** Wagner José Fávoro – Unicamp; **Inversión** R\$ 133.260,00 (FAPESP);
3. Producción de nanoestructuras mesoporosas a base de sílice para el transporte de agentes antitumorales hidrofóbicos – n° 09/ 10056-8; **Modalidades** Doctorado **Coordinadores** Amauri Jardim de Paula – Unicamp; **Inversión** R\$ 110.201,13 (FAPESP)

Artículos 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 (online).
- 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.