



NANOBIOLOGIA E CÂNCER: aplicações, avanços e perspectivas

**Yorran Hardman A. Montenegro
Karla Patrícia de Oliveira Luna**

 **eduepb**



Universidade Estadual da Paraíba

Prof. Antonio Guedes Rangel Junior | **Reitor**

Prof. Flávio Romero Guimarães | **Vice-Reitor**



Editora da Universidade Estadual da Paraíba

Luciano Nascimento Silva | *Diretor*

Antonio Roberto Faustino da Costa | *Editor Assistente*

Cidoval Moraes de Sousa | *Editor Assistente*

Conselho Editorial

Luciano do Nascimento Silva (UEPB)

Antônio Roberto Faustino (UEPB)

Cidoval Moraes de Sousa (UEPB)

José Luciano Albino Barbosa (UEPB)

Antônio Guedes Rangel Junior (UEPB)

Flávio Romero Guimarães (UEPB)

Conselho Científico

Afrânio Silva Jardim (UERJ)

Anne Augusta Alencar Leite (UFPB)

Carlos Wagner Dias Ferreira (UFRN)

Celso Fernandes Campilongo (USP/ PUC-SP)

Diego Duquelsky (UBA)

Dimitre Braga Soares de Carvalho (UFRN)

Eduardo Ramalho Rabenhorst (UFPB)

Germano Ramalho (UEPB)

Glauber Salomão Leite (UEPB)

Gonçalo Nicolau Cerqueira Sogas de Mello Bandeira (IPCA/PT)

Gustavo Barbosa Mesquita Batista (UFPB)

Jonas Eduardo Gonzalez Lemos (IFRN)

Jorge Eduardo Douglas Price (UNCOMAHUE/ARG)

Juliana Magalhães Neuwander (UFRJ)

Maria Creusa de Araújo Borges (UFPB)

Pierre Souto Maior Coutinho Amorim (ASCES)

Raffaele de Giorgi (UNISALENTO/IT)

Rodrigo Costa Ferreira (UEPB)

Rosmar Antonni Rodrigues Cavalcanti de Alencar (UFAL)

Vincenzo Carbone (UNINT/IT)

Vincenzo Milittello (UNIPA/IT)



Editora filiada a ABEU

Yorran Hardman A. Montenegro
Karla Patrícia de Oliveira Luna

NANOBIOTECNOLOGIA E CÂNCER:
aplicações, avanços e perspectivas



Campina Grande-PB
2019

Copyright © **EDUEPB**

A reprodução não-autorizada desta publicação, por qualquer meio, seja total ou parcial, constitui violação da Lei nº 9.610/98.

EDITORA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA

Diretor

Luciano do Nascimento Silva

Design Gráfico e Editoração

Erick Ferreira Cabral

Jefferson Ricardo Lima Araujo Nunes

Leonardo Ramos Araujo

Revisão Linguística

Elizete Amaral de Medeiros

Antonio de Brito Freire

Divulgação

Danielle Correia Gomes

Depósito legal na Biblioteca Nacional, conforme Lei nº 10.994, de 14 de dezembro de 2004.
FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA HELIANE MARIA IDALINO SILVA - CRB-15º/368

M772n Montenegro, Yorran Hardman A.

Nanobiotecnologia e câncer: aplicações, avanços e perspectivas. [Livro eletrônico]. Yorran Hardman A. Montenegro, Karla Patrícia de Oliveira Luna. – Campina Grande: EDUEPB, 2019.

1500 kb – 76 p.

ISBN 978-85-7879-589-4 (E-book)

ISBN 978-85-7879-579-5 (Impresso)

1. Biotecnologia. 2. Nanobiotecnologia. 3. Câncer. 4. Nanomedicina. 5. Biossensores. 6. Terapia gênica. I. Luna, Karla Patrícia de Oliveira. II. Título

21. ed. CDD 660.6

EDITORA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA

Rua Baraúnas, 351 - Bairro Universitário - Campina Grande-PB - CEP 58429-500

Fone/Fax: (83) 3315-3381 - <http://eduepb.uepb.edu.br> - email: eduepb@uepb.edu.br

Sumário

Prefácio	7
Capítulo 1 - NANOBIOTECNOLOGIA	8
Nanopartículas e câncer.....	13
Capítulo 2 - O CÂNCER – ASPECTOS GERAIS	18
Um breve histórico do câncer.....	18
O que é o câncer?.....	23
Quais as diferenças entre células normais e células cancerígenas?.....	26
Como as células cancerígenas invadem outros tecidos?.....	28
Tipos de câncer.....	31
Considerações importantes.....	33
Capítulo 3 - BIOSSENSORES – O ADVENTO DA DIAGNOSE	37
Histórico.....	37
Tipos de biossensores eletroquímicos.....	40
Biossensores ópticos.....	41
Biossensores piezoelétricos.....	42
Recentes avanços na pesquisa com biossensores.....	43
Especialidades de biossensores.....	47
Capítulo 4 - TERAPIA GÊNICA E CÂNCER	54
Sequências de DNA.....	61
Interferência por RNA.....	62
Small Interference RNAs (siRNAs).....	63
MicroRNAs.....	64

Capítulo 5 - NOVOS SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS	71
Perspectivas futuras	73

Prefácio

O câncer é uma doença complexa e heterogênea, resultado da combinação de alterações genéticas e epigenéticas. Como consequência, há uma deficiência no tratamento, visando que as terapias utilizadas atualmente afetam além das células neoplásicas, as células normais. Nesse contexto, a nanomedicina tem ganhado espaço na área de tratamento oncológico, objetivando o desenvolvimento de estratégias terapêuticas específicas e eficazes. Nessa perspectiva, realizou-se uma atualização sobre os principais avanços da nanobiotecnologia no diagnóstico e tratamento do câncer.

Trabalhos nos idiomas inglês, português e francês, com delineamento experimental e resultados satisfatórios, publicados entre 2010 até a atualidade, foram selecionados. Como resultado, foram encontrados estudos que desenvolveram sistemas nanotecnológicos para a veiculação de fármacos estabelecidos, visando melhorar de maneira terapêutica os mesmos. Há a utilização de material genético, por meio dos mais variados vetores, os quais têm contribuído para o crescimento da terapia gênica. Espera-se que, com o auxílio dos produtos nanobiotecnológicos, a qualidade de vida dos portadores de câncer possa ser melhorada.

Yorran Hardman A. Montenegro

NANOBIOTECNOLOGIA

O biomaterial, por definição, é uma substância ou uma combinação de substâncias derivadas de sistemas naturais ou de origem sintética, utilizados por um longo período de tempo, exercendo papel de sistemas orgânicos, seja como parte do tecido, de algum órgão ou função no corpo (RAMAKRISHNA, 2016).

As aplicações de biomateriais têm sido amplamente difundidas em setores como medicina e odontologia, em aplicabilidade cardiovascular, ortopédicas, dentais, terapêuticas, sistemas de liberação de drogas, e sensores de diagnose. Desde 1930, a tecnologia polimérica desses biomateriais tem se tornado o centro de aplicação e avanço técnico-científico. Acredita-se que o interesse gradual que está sendo desenvolvido por essa área em ascensão, possa contribuir para o sucesso da implementação dessa nova tecnologia em desenvolvimento (BOROVETZ et al., 2004).

Por ser de natureza interdisciplinar, a biotecnologia de materiais busca unir conhecimentos diversos para sua maior aplicabilidade em função do desenvolvimento de tecnologias aplicadas à saúde humanitária. Há dois pilares fundamentais quando tratamos de biomateriais, e entre estes estão: a ciência dos materiais e a ciência biológico-médica. Esses pilares utilizam-se dos conhecimentos empregados em ambas as áreas e os difundem em um entendimento mais aprofundando quanto à compreensão dos fenômenos biológicos e

as propriedades físico-químicas das biomoléculas (RATNER et al., 2004). De acordo com os avanços e compreensões acerca destes, pode-se dizer que um design apropriado pode ser implementado para interações mais aprofundadas quanto às propriedades direcionais, específicas e não-covalentes reversíveis entre os mesmos, tornando-os ferramentas poderosas para o desenvolvimento científico e tecnológico atual que, por sua vez, utilizando-os, há o desenvolvimento de plataformas que viabilizem uma interação entre propriedades mecânicas, químicas e biológicas (WEBBER et al., 2015).

Um grande exemplo desse desenvolvimento e envolvimento multidisciplinar na área de biomateriais é a nanobiotecnologia. Observando-se que a maioria dos sistemas biológicos da Terra estão em uma nanoescala, a união dos conhecimentos sobre biomateriais e nanotecnologia resultou no advento da nanobiotecnologia (RATNER et al, 2004). A nanobiotecnologia promoveu um abismo de aplicações nas áreas biomédicas, não apenas nas conhecidas terapias gênicas ou novos sistemas de liberação de fármaco, mas também no uso de biomarcadores, imagens moleculares e biossensores. Acredita-se que em um futuro próximo, a maior aplicação de nanosistemas de forma clínica será no desenvolvimento farmacêutico, na associação de nanopartículas e cápsulas poliméricas em nanoescala (KHAN et al, 2015).

O maior foco da nanobiotecnologia se dá principalmente, mas não limitado, (I) no desenvolvimento e refinamento de técnicas e processos de manipulação de nanoestruturas baseados nos componentes biológicos em nanoescala ou inspirados nesses, como, por exemplo, proteínas e oligonucleotídeos; (II) na manipulação dessas estruturas com design artificial das nanoestruturas para regulação nos processos e

sistemas biológicos; e (III) na construção de ferramentas para funcionamento e análise funcional dos sistemas, sensores e nanoestruturas (AMIN et al, 2011).

As aplicações quanto à nanotecnologia em áreas de diagnose, tratamento e monitoramento do controle de sistemas biológicos originou a subdivisão denominada de nanomedicina (Figura 1). A nanomedicina utiliza o conhecimento e compreensão acerca dos processos fisiopatológicos para aplicação das ferramentas nanobiotecnológicas, visando à otimização do diagnóstico, da prevenção e do tratamento de determinadas patologias. Assim, manipula a matéria de modo a obter nanoestruturas de tamanho compatível com o de biomoléculas, para interação com células humanas, permitindo um maior poder de alcance de agentes terapêuticos (GOLDBERG et al, 2013).

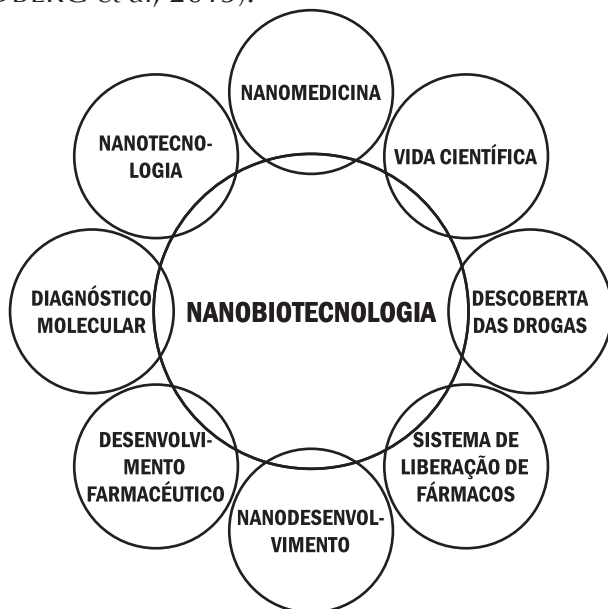


Figura 1 – Caracterização nas interações para a construção da nanomedicina

As maiores dos avanços na nanomedicina giram em torno de sistemas de entregas farmacêuticos, agentes de diagnose, e métodos terapêuticos, incluindo a identificação de condições específicas de recepção celular, sejam eles fagócitos, células cancerígenas ou células endoteliais, para diagnósticos específicos de doenças em geral, como, por exemplo, o câncer de modo geral, ou problemas gastrointestinais com as células endoteliais (KHAN et al, 2015). No entanto, seu uso não se restringe apenas nestes, podendo observar grande variedade de aplicações em um âmbito muito mais amplo.

Uma das aplicabilidades da nanomedicina se dá na área de diagnóstico. Ao longo dos séculos, a utilização de sistemas biológicos para detecção de doenças e prognósticos tem sido utilizado, desde o advento da microscopia no século XIX até a infinidade de possibilidades encontradas na utilização de técnicas a partir do estudo da interação entre moléculas e átomos através das ressonâncias magnéticas, difração dos raios-X, eventos estes ocorridos no século XX. Acredita-se que a utilização de organismos em nanoescala seja o advento do século XXI (Idem). Segundo o Doutor Jain (2012), a nanobiotecnologia proporciona um diagnóstico molecular refinado, com um extenso limite de possibilidades de detecção de problemáticas em sistemas biológicos; em que, dentre essas práticas, destaca-se a utilização de biomarcadores devido a sua sensibilidade e especificidade; no entanto, outros exemplos não podem deixar de ser dados efetivamente.

O sistema de diagnóstico tem sofrido grandes impactos devido ao desenvolvimento de biossensores que combinam a alta seletividade de um elemento biológico sensível ao analito de interesse, ligando-o a um transdutor que converte o sinal biológico em sinal elétrico proporcional à concentração

de analito (OLIVEIRA; VIEIRA, 2006). Seletividade, baixo custo, facilidade na construção, potencial para miniaturização, resposta rápida, potencial de automação e construção de equipamentos simples e portáteis caracterizam a natureza dos biossensores, garantindo, dessa forma, um grande número de pesquisas relacionadas ao desenvolvimento dessa nova tecnologia (OLIVEIRA; VIEIRA, 2006; LONG et al, 2013).

O tratamento, utilizando as vertentes nanobiotecnológicas, demonstra grande avanço na utilização da terapia gênica como um dos mais importantes avanços. A terapia gênica surge em um âmbito focalizado pela inibição e expressão de genes específicos, reparando-os, regulando-os e substituindo-os em um organismo (VICENTINI et al., 2013). Outro importante avanço é na área farmacêutica na utilização de nanofármacos, obtidos através do desenvolvimento de sistemas nanométricos, capazes de, como uma gaiola química, armazenarem em seu interior a molécula de uma droga ou o princípio ativo de um medicamento, de modo que venham a funcionar como vetores, melhorando o transporte pelo organismo e controlando a liberação do composto específico através da sua dissolução em tecidos-alvo específicos (ALI et al, 2011). Expectativas futuras para o desenvolvimento de nanofármacos almejam a diminuição de efeitos secundários e indesejados, bem como um aumento da eficácia do fármaco em seus aspectos de atuação seletiva (RICO, 2013).

Um dos mais desafiadores passos incorporados por essas novas tecnologias tem se aplicado ao desenvolvimento de ferramentas adequadas para o diagnóstico e combate ao câncer. O câncer é uma doença heterogênea e resultado da específica combinação de aberrações genéticas somáticas e

epigenéticas dentro de um tumor, no contexto das variantes germinativas presentes no mesmo paciente (LIPINSKI et al, 2016).

Hoje, a complexidade para um maior entendimento do câncer reflete-se através da insuficiência dos atuais meios de diagnóstico e prognóstico. Sua alta complexidade traz dificuldades até mesmo aos agentes terapêuticos citotóxicos atuais, que muitas vezes não são dotados da capacidade de diferenciar seu alvo (células tumorais) de células normais, particularmente, as células de rápido crescimento, e isto explica a maior parte dos efeitos colaterais gerados pela quimioterapia (náuseas, perda de cabelo, susceptibilidade maior às infecções) (TOKATLIAN; SEGURA, 2010).

Nanopartículas e câncer

As nanopartículas utilizadas no diagnóstico e tratamento do câncer possuem uma série de classificações, podendo estender-se em inorgânicas, lipídicas e poliméricas, variando de acordo com a estratégia de utilização e biodistribuição no corpo do paciente. Geralmente, a ativação dos compostos terapêuticos é acionada após a degradação do agente por endocitose nas células tumorais, transportado aos lisossomos e degradado, liberando o agente terapêutico no citossol. A liberação do agente terapêutico, seja ele farmacológico ou genético, possibilita sua fusão à membrana celular ou seguir caminhos específicos na célula de acordo com a estratégia terapêutica utilizada (FUKUMORI et al, 2006). Em alguns casos, a liberação do agente no microambiente tumoral faz com que as células tumorais, por difusão, adquiram o fármaco utilizado.

Quando nos induzimos a conhecer o mundo nanobiotecnológico, há pequenas nuances que devem ser efetivamente correlacionadas para um melhor conhecimento efetivo a respeito desse tema. É a utilização de moléculas biológicas como DNA, RNA e proteínas encapsuladas que moldam o entorno da nanotecnologia no diagnóstico e tratamento do câncer, num envolvimento de pesquisas científicas que revelam a potencialidade dessas ferramentas.

Biologicamente falando, o DNA é um nanomaterial. O mapeamento do DNA permitiu o acesso a informações epigenéticas sobre moléculas individuais de DNA de até 1 Mbp de comprimento. Rotulagem fluorescente de sequenciamento, marcas epigenéticas e outras informações sobre moléculas de DNA geraram um “código de barras” de alto conteúdo ao longo do DNA, esticando-o para uma configuração linear. O DNA emerge como uma ferramenta útil e importante, capaz de uma ampla gama de aplicações, com parâmetros biomoleculares seletivos, revelando estratégias eficazes no tratamento gênico contra o câncer (DORDIK, 2014).

Não obstante, a área de fármacos vem demonstrando seu potencial. Uma vez visualizadas as dificuldades enfrentadas pelo sistema de liberação de fármacos, especialmente quanto aos defeitos adversos no tratamento contra o câncer, emergiu a necessidade do desenvolvimento de nanomedicamentos, através do chamado *novo sistema de entrega de fármacos*. Suas vantagens norteiam desde o aumento de meia-vida do composto utilizado, protegendo-o contra a degradação; aumento da solubilidade em meio aquoso; direcionamento; promoção da captação celular e tráfego intracelular; com a utilização dos mais diferentes mecanismos de ação e toxicidade, permitindo uma fácil administração e maior capacidade de adesão ao organismo do paciente (JEWETT, 2013).

É evidente que um novo passo na era tecnológica do século XXI tem sido dado. Os avanços têm se tornado evidente e as pesquisas apontam para este novo parâmetro. Inúmeros avanços têm sido percebidos, e, não para menos, se faz necessário explanar as novas descobertas desses meios científicos. O campo de avanços nanobiotecnológicos é vasto e se faz necessário focarmos em uma área em especial. As novas ferramentas eficazes no diagnóstico e tratamento do câncer são o exemplo mais eficiente para demonstrarmos as novas descobertas e rumos científicos. Objetivando as últimas descobertas nessa área, iniciaremos uma demonstração eficaz das principais pesquisas explanadas nas áreas nanobiotecnológicas aplicadas ao câncer, identificando nestas a ação de diagnose e tratamento contra tumores, em que podemos observar, gradualmente, o ganho de espaço na condução evolutiva de detecção, diagnóstico e tratamento do câncer.

Referências

AMIN, Rashid; HWANG, Sieun; PARK, Sung Ha. NANOBIO TECHNOLOGY: AN INTERFACE BETWEEN NANOTECHNOLOGY AND BIOTECHNOLOGY. **Nano**, [s.l.], v.06, n.02, p.101-111, abr. 2011. World Scientific Pub Co Pte Lt. <<http://dx.doi.org/10.1142/s1793292011002548>>.

BOROVETZ, Harvey S. et al. **Application of Materials in Medicine**. Biology and Artificial Organs. In: SCIENCE, Biomaterials et al (Org.) An Introduction to Materials in Medicine. [s.l.]: Elsevier Academic Press, 2004, cap. 7. p. 455-698.

CHEN, Fa-ming; LIU, Xiaohua. Advancing biomaterials of human origin for tissue engineering. **Progress In Polymer Science** [s.l.],

v.53, n.1, p.86-168, fev. 2016. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2015.02.004>>.

DORDICK, Jonathan S; LEE, Kelvin H. Editorial overview: Nanobiotechnology. **Current Opinion In Biotechnology**, [s.l.], v.28, n.1, p.4-5, ago. 2014. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2014.06.015>>.

FUKUMORI, Yoshinobu; ICHIKAWA, Hideki. Nanoparticles for cancer therapy and diagnosis. **Advanced Powder Technology**, [s.l.], v.17, n.1, p.1-28, 1 jan. 2006. Brill Academic Publishers. <<http://dx.doi.org/10.1163/156855206775123494>>.

GU, Luo; MOONEY, David, J. Biomaterials and emerging anti-cancer therapeutics: engineering the microenvironment. **Nature Reviews Cancer**, [s.l.], v.16, n.1, p.56-66, 23 dez. 2015. Springer Nature. <<http://dx.doi.org/10.1038/nrc.2015.3>>.

JAIN, Kewal K. Nanobiotechnology-Based Cancer Diagnosis. Clinics. In: **Laboratory Medicine**, [s.l.], v.32, n.1, p.9-10, mar. 2012. Elsevier BV. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cll.2012.01.002>>.

KHAN, Imran. et al. Nanobiotechnology and its applications in drug delivery system: a review. **Nanobiotechnology**, [s.l.], v. 9, n. 6, p.396-400, 1 dez. 2015. Institution of Engineering and Technology (IET).< <http://dx.doi.org/10.1049/iet-nbt.2014.0062>>.

RAMAKRISHNA, Seeram. et al. **Biomaterials: A Nano Approach**. United Estates: Crc Press, 2010.

RATNER, Buddy D. et al (Org.). **Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine**. United States: Elsevier Academic Press, 2004.

SCIENCE, Biomaterials et al (Org.). **An Introduction to Materials in Medicine**. United States: Elsevier Academic Press, 2004. Cap. 7. p. 455-698.

WEBBER, Matthew J. et al. Supramolecular biomaterials. **Nature Materials**, [s.l.], v. 15, p.13-26, 18 dez. 2015. Springer Nature: <<http://dx.doi.org/10.1038/nmat4474>>.

O CÂNCER – ASPECTOS GERAIS

A primeira utilização da palavra câncer foi datada por Hipócrates (460-370 a.C), um físico grego, que utilizou os termos *carcinos* e *carcinoma* para descrever uma formação de tumor em úlcera. No sentido grego, a palavra *carcinoma* é traduzida para a língua vernácula como caranguejo. A palavra foi aplicada por Hipócrates devido à forma com que a úlcera espalhava-se pelos dedos do seu paciente, deixando-os com aspectos de patas de caranguejo. Celsus (28-50 a.C) adaptou a palavra, traduzindo-a para o termo câncer, do latim, caranguejo. Concomitante a utilização do termo câncer, a palavra *oncos* (do grego, inchaço) foi utilizada pelo médico grego Galen (130-200 d.C) para descrever tumores.

Um breve histórico do câncer

O primeiro achado histórico relacionado ao câncer data-se em 3000 a.C, em um papiro do Antigo Egito, parte de um livro de cirurgia e medicina, descrevendo a ocorrência de oito tumores de mama removidos por cauterização ou queimando a área lesionada. O papiro termina com a frase em destaque de que “Não há tratamento”. Como registramos, Hipócrates criou o termo para a doença denominando-a de *carcinoma* (BUSHAK, 2015).

Os gregos estavam totalmente influenciados por suas teorias, o que fez com que Hipócrates formulasse a chamada *Teoria Humoral*. Hipócrates acreditava que o corpo continha quatro humores (ou fluidos corporais): 1) sangue; 2) catarro; 3) bile amarela; 4) bile negra. O desequilíbrio desses fluidos, segundo sua teoria, resultaria em alguma doença que compromettesse seu organismo, no entanto, em especial, o acúmulo e desequilíbrio da bile negra ocasionaria o câncer. A *Teoria Humoral* persistiu até a Idade Média por mais de 1300 anos. Vale salientar que as autópsias nesse tempo foram proibidas por motivos religiosos, limitando de forma intrínseca o conhecimento a cerca do câncer (SUDHAKAR, 2009).

Ao longo do tempo, surgiram diversas teorias que tentavam, de alguma forma, explicar a ocorrência do câncer. A primeira teoria que surgiu foi a Teoria da Linfa, no século 17. Essa teoria propunha que a vida sustentava-se a partir dos movimentos entre a linfa e o sangue, no entanto, o desequilíbrio ocasionado pela linfa proporcionava o aparecimento do câncer através da acidez e alcalinidade alteradas.

Em 1665, com o advento da microscopia e as descobertas realizadas por Robert Hooker, começou-se, de fato, 200 anos mais tarde, a curiosidade científica conquanto às estruturas celulares. Segundo a *American Cancer Society*, nesse período, a Renascença trazia consigo o súbito interesse conquanto ao corpo humano. Cientistas como Galileu e Newton trabalhavam mais arduamente para estabelecimento do método científico, corroborando com as descobertas de Harvey (1628) sobre uma melhor compressão a respeito da circulação do sangue no coração e corpo. Com o auxílio do método científico em ascendência, o médico Giovanni

Morgagni de Pádula (1761) foi o pioneiro a realizar autópsias e relacionar a doença do paciente com os achados patológicos, a partir das observações microscópicas de Hooker, escrevendo uma metodologia eficaz para um melhor entendimento dos óbitos dos seus pacientes. Muller, realizando autópsias dos tecidos danificados pelo câncer, observou, em 1838, que o câncer era composto por células. Mais tarde, o aluno de Muller, Virchow, determinou que todas as células, incluindo células cancerosas foram derivadas de outras células, dando origem a Teoria de Blastema (SUDHAKAR, 2009).

Virchow defendia a ideia de que a irritação crônica era a causa do câncer. No entanto, mais tarde, Thiersch mostrou que os exemplares de câncer irradiavam em metástase através da propagação de células malignas e não através de um líquido não identificado. Até o final dos anos 1800 até a década de 1920, o câncer foi pensado como ocasionado por algum trauma (SUDHAKAR, 2009).

Descobertas dos escritos do cientista britânico Percivall Pott datados, em 1775, puderam identificar uma causa natural ao câncer – os carcinógenos na fuligem da chaminé. Percivall através das varreduras nas chaminés que passavam a maior parte dos seus dias cobertas, onde esses trabalhadores ou acometidos por tais aspectos ambientais tinham uma maior susceptibilidade ao câncer de próstata (BUSHAKA, 2015).

Em 1902, um zoólogo chamado Theodor Boveri descobriu o fundo genético básico para a associação de cromossomos e câncer. Segundo suas observações, os cromossomos mutados de uma espécie em particular poderiam dar origem a células com multiplicação e crescimento ilimitados. Essas observações o levaram a concluir que o câncer estava

associado a fatores genéticos, produtos químicos, patógenos ou radiação. Em 1953, com a descoberta da estrutura do DNA por Watson e Crick, os cientistas começaram a observar como os genes poderiam ser danificados por mutações. Em 1970, houve o advento da descoberta de dois genes importantes aliados ao crescimento e multiplicação de células cancerígenas: os oncogenes e os genes supressores de tumor (BUSHAK, 2015).

Em resumo, os cientistas acabaram revelando a relação entre os genes mutados denominados de proto-oncogenes, ou seja, genes geralmente associados à frequência com que ocorre a divisão celular e o grau de diferenciação celular, observando sua relação com o desenvolvimento de células cancerígenas. Os genes supressores de tumor estão associados ao controle da divisão celular, reparo do DNA e informação conquanto ao tempo de morte celular através do mecanismo de apoptose. Através da desordem desses genes, as células podem crescer fora do controle, o que pode ocasionar o câncer.

A partir dessas recentes descobertas, os anos foram eficazes para um gradual crescimento de pesquisas científicas levantando o objetivo de encontrar, efetivamente, a cura do câncer. Essas políticas foram instaladas no governo de Richard Nixon, em 1971, com o objetivo de incentivar as pesquisas científicas em busca de resultados eficientes para o combate ao câncer. O presidente investiu mais de US\$ 100 milhões em pesquisas com esse objetivo, sancionando a lei denominada *The Nacional Cancer Act* (P.L. 92-218) estipulando a “guerra contra o câncer”.

A *Cancer Rearch Society* projetou em seu site oficial uma linha do tempo histórica identificando as principais

descobertas em relação ao câncer. A Sociedade teve sua fundação no ano de 1945 com o objetivo de pesquisar a cura para o câncer. A partir da datação de 1971, podemos observar um grande número de avanços científicos. Os pesquisadores mostram que as células tumorais secretam fatores que promovem novos vasos sanguíneos (um fenômeno chamado angiogênese). A identificação subsequente desses fatores torná-los-á alvos moleculares (1974). Os erros de replicação do DNA são identificados como causas de tumores. A Citogenética torna possível a identificação de rearranjos cromossômicos específicos para certos tipos de leucemia e linfomas (1977). Os exames de ressonância magnética são inventados, permitindo a detecção de tumores em estágio inicial (1979). O gene *p53* é descoberto. Mais tarde, mostrar-se-á que as mutações *p53* estão implicadas em quase 50% dos tumores humanos. Tirocinases são descobertas - as quinases são um tipo de enzimas que modificam as proteínas (1980). Estudos mostram que as células cancerosas secretam enzimas, permitindo-lhes degradar o seu meio circundante, dando-lhes acesso a outros vasos sanguíneos e tecidos, um fenômeno chamado metástase (1983). O papilomavírus humano (HPV) é identificado como a causa do câncer cervical. Esta descoberta levará ao desenvolvimento de uma vacina para prevenir este tipo de câncer (1986). A telomerase e o gene supressor de tumores de retinoblastoma (Rb) são identificados (1987). Está demonstrado que o gene HER-2/neu do receptor do fator de crescimento é amplificado em 15% dos cânceres da mama do estágio 1. O marcador HER-2/neu tornar-se-á mais tarde o alvo terapêutico do trastuzumab (Herceptin), que aumentará a taxa de sobrevivência de doentes com

cancro da mama HER-2/neu positivo (1990). As mutações do gene BRCA1 estão associadas à transmissão hereditária do cancro da mama (1995). A tecnologia de microarranjos de DNA é desenvolvida, tornando possível analisar a expressão e a presença de mutações em milhares de genes simultaneamente (2001). A sequência do genoma humano é obtida, dando ênfase à pesquisa quanto ao genoma de vários tumores, a fim de identificar as mutações levando ao desenvolvimento do câncer (2004). Uma vacina contra o vírus do papiloma humano (HPV) é utilizada para prevenir o cancro do colo do útero.

Atualmente, inúmeras outras pesquisas em todo o mundo, envolvendo as principais descobertas acerca do câncer já foram desenvolvidas e ainda estão em processo de desenvolvimento, sendo impossível achar um espaço suficiente para colocá-las enumeradas em uma linha de tempo satisfatória.

O que é o câncer?

O Instituto Nacional do Câncer (*National Cancer Institute*) define o câncer como um conjunto de doenças relacionadas à divisão desordenada dessas células e dispersão em tecidos circundantes.

As células normais seguem o seu ciclo de vida sem interferência, ou seja, crescem e dividem-se formando novas células à medida que o corpo necessite, no entanto, quando elas envelhecem ou sofrem algum dano, morrem, e novas células tomam seu lugar. No câncer, esse ciclo de vida é diferenciado. À medida que as células tornam-se cada vez mais anormais, as células envelhecidas ou danificadas acabam sobrevivendo, no entanto, mesmo estas vivas, novas

células se formam quando não são necessárias, gerando sucessivamente novas divisões promovendo o crescimento dos tumores.

O tumor tem duas naturezas: sólidas – quando forma-se uma massa de células – e líquidas, quando estão presentes no sangue, como no caso da leucemia. Quando esses tumores acabam espalhando-se para os tecidos próximos, recebem o nome de malignos. O perigo dessa invasão tecidual é devido a possível quebra da massa de células ou, até mesmo, algumas células danificadas possam viajar através da corrente sanguínea para as diversas partes do corpo, originando novos tumores em outros tecidos, distantes do tecido originário (Figura 2).

Diferente dos tumores malignos, os benignos não invadem tecidos próximos. Eles podem desenvolver-se em massas volumosas, no entanto, não significa necessariamente que, quando removidos, poderão ter a capacidade de desenvolver-se novamente.

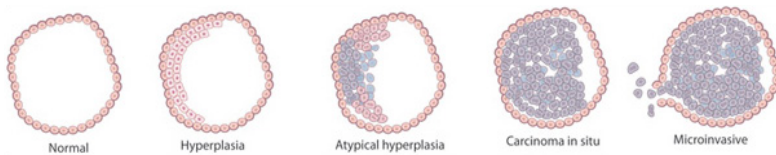


Figura 2 - Microevolução de uma célula cancerosa

Fonte: Nature, 2010.

Nota: Uma série de mutações em uma célula faz com que ela proliferasse mais do que seus vizinhos imediatos. À medida que o grupo de células em divisão cresce ao longo do tempo, outras mutações tornam a hiperplasia atípica em um câncer (carcinoma). A disseminação de células cancerosas para outros tecidos e órgãos (metástase) ocorre quando a adesão dessas células cancerosas quebra, e eles são capazes de viajar facilmente para novos locais.

Para que uma célula desenvolva-se em câncer é necessário o que chamamos de mutação. Essas mutações são decorrentes de erros no material genético (DNA) dentro das células. As mutações em si são espontâneas, no entanto, fatores naturais podem ocasionar tais danos, como no caso de radiação.

O *Cancer Institute (NSW)* listou uma série de fatores que podem implicar em mutações, incluindo: danos ao DNA celular; radiação ultravioleta do sol; substâncias químicas do tabaco; Espécies Reativas ao Oxigênio (*ROS*); vírus; etc. Concomitante a esses fatores, o instituto listou algumas características que promovem a propensão de risco ao câncer, como por exemplo: o envelhecimento; histórico familiar; tabagismo; alcoolismo; obesidade; etc.

Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), a formação do câncer ocorre através do processo de *carcinogênese*. Há principalmente três estágios que promovem o desenvolvimento dos tumores: 1) Estágio de iniciação: A modificação genética ocorre, no entanto, não é possível identificar clinicamente um tumor mesmo que haja “preparação” celular para o desenvolvimento deste; 2) Estágio de promoção: As células “preparadas” sofrem atividade de agentes cancerígenos denominados de oncopromotores, promovendo uma mudança longa e gradual, transformando-a em célula maligna; 3) Estágio de progressão: As células multiplicam-se de maneira descontrolada e irreversível, promovendo as primeiras manifestações clínicas.

O câncer desenvolve-se de forma única em cada pessoa. As combinações das alterações no material genético de cada pessoa desenvolvem essa forma única de câncer. Deve-se levar em consideração também que as mudanças genéticas podem estar ou não associadas ao câncer, outras vezes elas

são ocasionadas pelo próprio câncer, no entanto, dentro de um mesmo tumor, as diferentes células podem ter diferentes alterações genéticas. As células normais também possuem alterações, no entanto, o número de alterações em células danificadas do câncer é bem maior (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2017).

Quais as diferenças entre células normais e células cancerígenas?

A partir das mutações genéticas, observou-se que diferentes genes defeituosos ocasionam os diferentes tipos de câncer. O Projeto Genoma do Câncer revelou que células cancerosas possuem no mínimo 60 tipos de mutações, dentre estas, genes eram atingidos e promoviam a inativação dos genes supressores da atividade proliferativa da célula e genes ativadores da apoptose. O desafio hoje é encontrar a correlação entre o gene e o tipo de câncer, pois alguns genes mutados são encontrados em vários tipos de tumores (NATURE, 2010). A explanação quanto aos genes mais conhecidos na literatura e sua implicação no câncer podem ser observadas no capítulo 4.

O Instituto Nacional do Câncer pontua que uma das diferenças mais importantes entre células normais e células do câncer é a sua especialização. As células normais depois de maduras possuem uma especialização de atividades relacionadas a uma gama de funções histológicas distintas, enquanto as células defeituosas do câncer apresentam poucas distinções.

As células cancerígenas possuem a habilidade de invadir outros tecidos, no entanto, uma das barreiras mais

significativas encontradas pelas células invasivas é a membrana basal, uma matriz extracelular fina, densa, altamente reticulada que envolve a maioria dos tecidos (ROWE; WEISS, 2008). O desenvolvimento da habilidade de invasão é acompanhado por uma série de mudanças na expressão gênica. Maltus, et al (2015), atentando-se a esses fatores, observaram que nas populações de células tumorais, a atividade de invasão não pode ocorrer ao mesmo tempo em que a atividade de duplicação, ou seja, uma mesma célula não pode invadir tecidos e duplicar-se ao mesmo tempo. Essa constatação abre as portas para uma melhor compreensão da atividade nas células cancerígenas, sugerindo uma divisão de tarefas para populações de células invasoras e células reprodutoras. Essa especialização de funções pode ser considerada um fator evolutivo interessante, no entanto, bastante simples em comparação com as especializações de células normais.

Embora essa especialização seja bastante simples, devemos considerar que a capacidade de adaptação das células cancerígenas em seu microambiente tumoral são exemplos adaptativos surpreendentes. As células cancerosas podem ser capazes de influenciar as células normais, moléculas e vasos sanguíneos que cercam e alimentam um tumor a, por exemplo, induzir a formação de vasos sanguíneos para o fornecimento de oxigênio e nutrientes. As células cancerosas também são capazes de fugir ao sistema imunológico, embora o sistema imunológico normalmente possua a função de remoção das células danificadas ou anormais do corpo. Os tumores também podem usar o sistema imunológico para permanecerem vivos e crescerem com a ajuda de certas células do sistema imunológico que normalmente

impedem uma resposta imune fugitiva, as células cancerosas podem realmente impedir que o sistema imunológico mate células cancerosas (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2017).

Como as células cancerígenas invadem outros tecidos?

Um tumor, ao tornar-se maligno, adquire a capacidade de invadir outros tecidos, podendo seguir uma série de caminhos alternativos depois de disseminados em outros tecidos durante a metástase. A capacidade de invasão dessas populações de células cancerígenas, muitas vezes, dá-se pela capacidade de secreção de proteases, tornando-as capazes de degradar a matriz extracelular nos limites de um tecido, dando-lhes a capacidade de criar novas passagens dos tecidos (NATURE, 2010).

A palavra metástase é utilizada para designar quando as células cancerígenas invadem outros tecidos, dirigindo-se a uma nova localização do corpo e iniciando novos tumores.

O esquema, a seguir, (Figura 3), descreve os caminhos alternativos que as células cancerosas podem seguir após serem disseminadas para um novo tecido durante a metástase. As setas tracejadas ou pontilhadas verticais no lado esquerdo do diagrama indicam períodos aproximados de tempo para várias etapas dentro do diagrama.

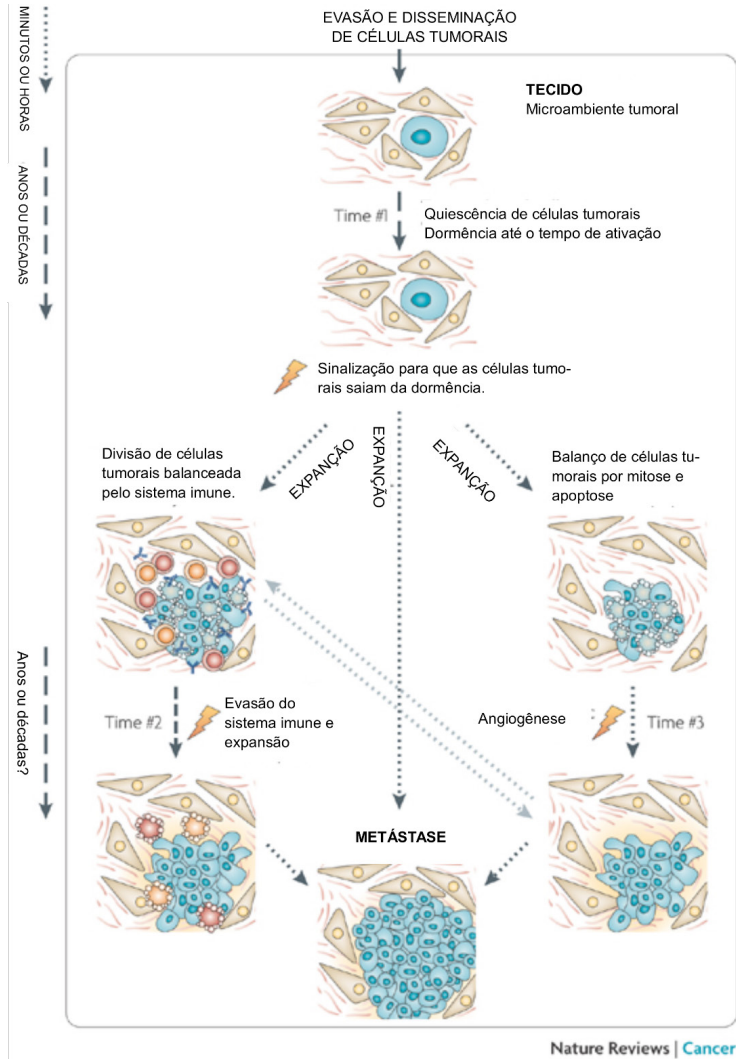


Figura 3 - An integrated view of cancer metastasis dormancy

Fonte: © 2007 Nature Publishing Group Aguirre-Ghiso, J. A. Models, mechanisms and clinical evidence for cancer dormancy. Nature Reviews Cancer 7, p.834-846. 2007. doi: 10.1038/nrc2256. All rights reserved).

A metástase causa 90% das mortes por tumores sólidos, exibindo um conjunto diverso de manifestações clínicas. Por exemplo, no câncer de mama, as metástases podem ser indetectáveis e podem permanecer latentes por muitos anos após a remoção do tumor primário, vindo à tona como lesões incuráveis que são desencadeadas por causas desconhecidas. A recorrência para a metástase, às vezes, pode ser prevista a partir de certas características do tumor primário. No câncer de mama, por exemplo, o grau histológico e o padrão de expressão do gene são indicativos importantíssimos para a probabilidade de evolução metastática. No entanto, outros fatores podem desencadear a progressão em metástase do tumor (VAN DE WOUW et al., 2003).

A disseminação de células tumorais inclui, na maioria das vezes, a invasão de linfonodos locais através do sistema linfático. As células tumorais agressivas normalmente entram na corrente sanguínea e chegam a tecidos distantes, diferentes de tumores mais brandos. Esta disseminação tem padrões definidos de migração entre órgãos refletindo em uma maior heterogeneidade de células tumorais, concomitante ao tipo de câncer em questão (WEISS, 2000).

Análises genômicas do tecido tumoral humano e tecnologias inovadoras para a exploração de modelos *in vitro* estão sendo desenvolvidas para reavaliar conceitos clássicos sobre a natureza evolutiva de células metastáticas geneticamente instáveis, bem como a interação entre células cancerosas circulantes e microambientes teciduais, incluindo nessas buscas a melhor compressão a respeito da seleção de traços pró-metastáticos em diferentes estágios de progressão tumoral. Esse conjunto de eventos que satisfazem especificamente os requisitos exclusivos de funções de invasão

metastática implica em um desafio para uma melhor explicação de como os tumores conseguem sofrer metástase. Nguyen e Massagué (2007) realizaram uma revisão literária objetivando uma melhor visão a respeito dos conhecimentos em desenvolvimento sobre o processo de metástase. Esses aspectos revelam a utilidade para conciliar e unificar todas as noções científicas a respeito do processo de metástase. Os exemplos disponíveis para vários tipos de determinantes metastáticos – genéticos e epigenéticos, somáticos e herdados – escassos – nas palavras dos autores – servem como precedentes para a futura identificação de mais genes envolvidos em metástases.

Tipos de câncer

Existem mais de cem tipos de câncer conhecidos hoje. Nesta seção, destacam-se apenas os principais grupos existentes de forma superficial, pois não é o foco do capítulo tratar de cada grupo de forma separada. Para uma melhor compreensão de cada tipo separado de câncer, consulte a literatura adequada.

Carcinoma: Os carcinomas são o tipo mais comum de câncer, formados por células epiteliais subdivididos em diferentes tipos de células epiteliais, com nomes específicos, por exemplo: adenocarcinoma (células epiteliais que produzem fluidos ou muco. A maioria dos cânceres de mama, cólon e próstata são adenocarcinomas); basocelular (começa na camada inferior ou basal da epiderme, camada externa da pele); células escamosas (se formam em células escamosas, abaixo da superfície externa da pele, também se encontram muitos outros órgãos, incluindo o estômago, intestinos,

pulmões, bexiga e rins. O nome se dá pela disposição, como as escamas de peixe, quando vistas sob um microscópio); células de transição (se formam no tecido epitelial chamado epitélio de transição encontrado nos revestimentos da bexiga, ureteres e parte dos rins) (SIEGEL et al., 2017).

Sarcoma: forma-se nos ossos e tecidos moles, incluindo músculos, gordura, vasos sanguíneos, vasos linfáticos e tecido fibroso. Como exemplo, há o osteossarcoma (Al et al., 2017).

Leucemia: começa no tecido formador de sangue da medula óssea e não forma tumores sólidos. Em vez disso, um grande número de glóbulos brancos anormais acumula-se no sangue e na medula óssea, eliminando as células sanguíneas normais. O baixo nível de células sanguíneas normais pode tornar mais difícil para o corpo obter oxigênio para seus tecidos, controlar o sangramento ou combater infecções. Os tipos mais comuns de leucemia são: aguda e linfoblástica (células sanguíneas) (RODRIGUES et al., 2016).

Linfoma: começa em linfócitos (células T ou células B, células brancas do sangue que fazem parte do sistema imunológico). No linfoma, linfócitos anormais se acumulam nos linfonodos e nos vasos linfáticos, bem como em outros órgãos do corpo. Como exemplo, temos o linfoma de Hodgkin. As pessoas com esta doença têm linfócitos anormais que são chamados células Reed-Sternberg formadas a partir de células B (KOLSTAD et al., 2017).

Mieloma múltiplo: começa em células plasmáticas, tipo de célula imunológica. As células plasmáticas anormais, chamadas células de mieloma, acumulam-se na medula óssea e formam tumores nos ossos em todo o corpo. Mieloma múltiplo é também chamado de mieloma de células plasmáticas e doença de Kahler (TERPOS, 2017).

Melanoma: inicia em células que se tornam melanócitos (células especializadas que fazem melanina). A maioria dos melanomas se formam na pele, mas os melanomas também podem se formar em outros tecidos pigmentados, como o olho (LUBBE et al., 2016).

Considerações importantes

A partir de um maior conhecimento acerca do câncer e seu desenvolvimento, hoje é possível desenvolver meios de diagnóstico precoce e maior efetividade no tratamento dessa doença. Vale salientar que os meios de diagnósticos atuais não detectam o câncer de forma precoce, especialmente por ter uma grande dependência quanto às manifestações clínicas dos pacientes junto a fatores biológicos vistos em exames exaustivos.

Foi por meio dessas dificuldades que os biossensores surgem como uma forma abrangente no diagnóstico precoce e preciso da doença. As análises com biossensores abrem o leque de opções quanto a uma maior efetivação do tratamento adequado. Os biossensores serão mais bem explanados no capítulo 3.

Os meios de tratamento hoje possuem limitações e efeitos colaterais desagradáveis aos pacientes. Por meio dessas dificuldades visando a um melhor benefício ao paciente e efetividade no tratamento, novas tecnologias têm sido empregadas para essa melhora significativa. Entre essas novas tecnologias, há a utilização do novo sistema de fármacos, prometendo ser uma área em gradativa expansão no cenário biotecnológico. Concomitante a este novo sistema, há a utilização do próprio código genético (DNA) para garantir a cura do paciente. As promessas futuras mostram-se promissoras

e, a partir dos capítulos 4 e 5, poderá compreender de uma maneira simplificada o melhor desempenho dessas novas tecnologias científicas visando ao benefício do paciente, um diagnóstico precoce e efetivamente, tratamento e cura da doença.

Referências

AMERICAN CANCER SOCIETY. **The History of Cancer.**

Disponível em: <<https://www.cancer.org/cancer/cancer-basics/history-of-cancer.html>>. Acesso em: 15 maio 2017.

AI, Jin-wei; LIU, Bin; LIU, Wei-dong. Folic acid-tagged titanium dioxide nanoparticles for enhanced anticancer effect in osteosarcoma cells. **Materials Science And Engineering: C**, [s.l.], v.76, n.1, p.1181-1187, jul. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.027>.

CANCER INSTITUTE NSW. **Understanding cancer.** Disponível em: <<https://www.cancerinstitute.org.au/understanding-cancer>>. Acesso em: 15 maio 2017.

CANCER RESEARCH SOCIETY. **History of Cancer.** Disponível em: <<https://www.crsrc.ca/page.aspx?pid=1972>>. Acesso em: 15 maio 2015.

ELSEVIER BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2016.07.013>.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **O que é câncer?**

Disponível em: <http://www1.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=322>. Acesso em: 15 maio 2017.

Disponível em: <<http://www.medicaldaily.com/ancient-tumors-todays-breakthroughs-brief-historycancer-339818>>. Acesso em: 15 maio 2017.

KOLSTAD, Arne et al. Molecular Monitoring after Autologous Stem Cell Transplantation and Preemptive Rituximab Treatment of Molecular Relapse; Results from the Nordic Mantle Cell Lymphoma Studies (MCL2 and MCL3) with Median Follow-Up of 8.5 Years. **Biology Of Blood And Marrow Transplantation**, [s.l.], v. 23, n. 3, p.428-435, mar. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbmt.2016.12.634>.

LUBBE, S. J. et al. Rare variants analysis of cutaneous malignant melanoma genes in Parkinson's disease. **Neurobiology Of Aging**, [s.l.], v. 48, n. 1, p.222, dez. 2016.

NATIONAL CANCER INSTITUTE. **Milestone (1971)**: National Cancer Act of 1971. Disponível em: <https://ntp.cancer.gov/timeline/flash/milestones/M4_Nixon.htm>. Acesso em: 15 maio 2015.

NATIONAL CANCER INSTITUTE. **Understanding Cancer**. Disponível em: <<https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding>>. Acesso em: 15 maio 2017.

NATURE EDUCATION. **Cell Division and Cancer**. Disponível em: <<https://www.nature.com/scitable/topicpage/cell-division-and-cancer-14046590>>. Acesso em: 15 maio 2017.

NGUYEN, Don X.; MASSAGUÉ, Joan. Genetic determinants of cancer metastasis. **Nature Reviews Genetics**, [s.l.], v. 8, n. 5, p.341-352, maio 2007. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nrg2101>.

RODRIGUES, Celso Arrais et al. Diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: recommendations from the Brazilian Group of Chronic Lymphocytic Leukemia. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, [s.l.], v. 38, n. 4, p.346-357, out. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjhh.2016.07.004>.

SIEGEL, Julia A.; LUBER, Adam J.; WEINSTOCK, Martin A. Predictors of actinic keratosis count in patients with multiple keratinocyte carcinomas: A cross-sectional study. **Journal Of The American Academy Of Dermatology**, [s.l.], v. 76, n. 2, p.346-349, fev. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaad.2016.09.020>.

SUDHAKAR, Akulapalli. History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods. **Journal Of Cancer Science & Therapy**, [s.l.], v. 01, n. 02, p.1-4, nov. 2009. OMICS Publishing Group. <<http://dx.doi.org/10.4172/1948-5956.100000e2>>.

TERPOS, Evangelos. Multiple Myeloma: Clinical Updates From the American Society of Hematology Annual Meeting 2016. **Clinical Lymphoma Myeloma And Leukemia**, [s.l.], v. 1, n. 1, p.1-2, mar. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clml.2017.02.010>.

VAN DE WOUW, AJ; JANSEN, R.L.; SPEEL, EJ; HILLEN, H.F. A biologia desconhecida do tumor primário desconhecido: uma revisão da literatura. **Ann. Oncol**, n.14, p.191-196. 2003.

WEISS, L. Metastasis of cancer: uma história conceitual da antiguidade aos anos 1990. **Cancer Metastasis Rev.** n.19, p.193-383, 2000.

BIOSENSORES – O ADVENTO DA DIAGNOSE

Histórico

A detecção de patógenos biológicos possui uma importância crucial na prevenção de doenças (BORREBAECK, 2010). Com o objetivo de realizar contagens rápidas e apropriadas em casos de contaminação de alimentos e controle destes, ferramentas simples e baratas são necessárias (HUCKLE, 2006; SOPER, 2006).

Apesar de o desenvolvimento de sensores e biossensores clínicos ter avançado recentemente, melhorias em sensibilidade, seletividade, limites de detecção, resposta rápida e miniaturização precisam ser observados e realizados. A Saúde Pública oferece grande oportunidade para o desenvolvimento de biossensores. Entre os diferentes tipos de sensores e biossensores estão os biossensores eletroquímicos, os mais comuns na clínica, devido a sua alta sensibilidade e seletividade, rápida resposta e baixo custo (JUSTINO, 2010).

Os biossensores representam a união entre duas diferentes áreas: a biologia, devido à especificidade e a seletividade dos sistemas biológicos, com a computação de microprocesso (SHANTILATHA; VARMA; MITRA, 2003), tornando-se uma ferramenta analítica poderosa, com grandes aplicações em diferentes áreas (TURNER, 1994). Em modos gerais, um biossensor é um dispositivo que apresenta em sua estrutura

um elemento biológico de reconhecimento conectado ou integrado intimamente a um transdutor (SHANTILATHA; VARMA; MITRA, 2003).

Segundo Long et al. (2013), a definição para biossensor seria: “Biossensor é um dispositivo analítico que combina um elemento biológico receptor com um transdutor físico, em que a ligação ou reação entre o alvo (analito) e o elemento de reconhecimento é traduzida num sinal elétrico mensurável”.

Os primeiros biossensores desenvolvidos foram os biossensores amperométricos para detecção de glicose e os pontenciométricos para detecção de ureia. Atualmente, diversos tipos de biossensores estão sendo desenvolvidos e empregados para uma melhor análise química envolvendo várias substâncias e em diversas áreas, como: biológicas, clínicas, industriais (FILHO; CAPELATO, 1992), alimentícia (FURTADO et al., 2008), defesa e segurança (MALHOTRA; TURNER, 2003).

Um dos principais desafios é a busca por métodos simples, rápidos e menos reativos para algumas determinações específicas de compostos variados, sejam elas quantitativas ou qualitativas. Um grande número dessas aplicações está nas áreas de análises clínicas e de biotecnologia. No entanto, as determinações químicas mais simples sofrem devido à falta de especificidade e uma série de interferências, com fatores coadjuvantes de lentidão e um alto valor capital. Precisa-se atentar ao desenvolvimento de biossensores devido a sua simplicidade, sensibilidade, especificidade, tamanho e custo-benefício como sendo os fatores primordiais para uma melhora significativa no desenvolvimento tecnológico (LONG et al., 2013).

A utilização dos biossensores tem sido empregada cada vez mais no monitoramento contínuo dos processos biológicos e sintéticos, ajudando na compreensão desses processos. Biossensores também podem satisfazer a necessidade de monitoramento contínuo, em tempo real *in vivo* em substituição às técnicas analíticas intermitentes utilizadas na indústria química e clínica. Como consequência disto, o desenvolvimento de biossensores tornou-se uma área fortemente ativa (ZHANG; WRIGHT; YANG, 2000).

Um biossensor possui o elemento receptor (material biológico), o transdutor (dispositivo capaz de transformar um tipo de sinal em outro) e a unidade processadora do sinal (CALIL; SILVA, 2011; FILHO; CAPELATO, 1992). Devido a essa composição, os biossensores podem ser classificados em vários tipos, de acordo com os transdutores que cada um apresenta em sua estrutura. Normalmente, tem-se conhecimento dos eletroquímicos (amperométricos, potenciométricos e condutimétricos), ópticos, acústicos, calorimétricos (MALHOTRA; TURNER, 2003) e os piezoelétricos (CALIL; ROBERTO, 2011; TURNER, 1994).

Os transdutores agem como uma interface, medindo as mudanças físicas (interações bioquímicas) que ocorrem na reação com biorreceptor, transformando esta energia em sinais elétricos mensuráveis (PATHAK; KATIYAR; GIRI, 2007). Para que um transdutor seja considerado ideal, juntamente com o material biológico, para utilização em um determinado biossensor, o mesmo deve detectar apenas um reagente ou um produto específico, não respondendo a outras substâncias presentes na amostra analisada (FILHO; CAPELATO, 1992). Há uma importância fundamental quanto

à imobilização enzimática, especialmente para o aumento do tempo de vida (KRAJEWSKA, 2004).

Um dos grandes desafios na fabricação destes biossensores trata-se da possibilidade de reutilização dos mesmos, sem que haja perda na eficiência do dispositivo, ou seja, aumento na vida útil do biossensor, para tanto existe a necessidade de um controle na variação do pH e da temperatura (SOARES, 2011). Os elementos receptores devem ser componentes biológicos, dentre os quais podem ser utilizadas enzimas (CALIL; SILVA, 2011).

Historicamente, as enzimas foram os primeiros elementos moleculares de reconhecimento utilizados em biossensores e continuam como base para um significativo número de publicações ligado a este tema (LONG et al., 2013). CALIL e ROBERTO (2011) afirmaram em seu estudo que os elementos receptores enzimáticos são muito interessantes como biossensores, devido à variedade de produtos de reação mensuráveis do processo catalítico, que incluem prótons, elétrons, luz e calor.

Tipos de biossensores eletroquímicos

Thévenot (2001) define biossensor eletroquímico como dispositivo integrado capaz de prover informações de análises quantitativas ou semiquantitativas específicas usando elementos de reconhecimento biológico em contato direto com elementos de transdução eletroquímica.

Um bom exemplo de biossensor eletroquímico é o biossensor para aferição da glicose. Já em 1962, o primeiro biossensor para este fim foi desenvolvido por Clark e Lions. O primeiro aparato construído por eles constava de uma

fina camada de glicose oxidase presa em um elétron de Oxigênio, via membrana semipermeável de diálise. As medições foram feitas monitorando o Oxigênio consumido pela reação de catalização da enzima (WANG, 2008).

Hoje, todo o campo, relacionado a biossensores deste tipo, deve sua origem ao elétron de glicose de Clark (WANG, 2008).

A aplicação de nanotubos de carbono (CNTs) a biossensores eletroquímicos tem estado em desenvolvimento. CNTs são incorporados aos sensores eletroquímicos devido à posse de interessantes vantagens: alta condutividade elétrica, excelente biocompatibilidade, estabilidade química e força mecânica (HU, 2009; JACOBS, 2010). Biomoléculas (proteínas e DNA) podem também adsorver em CNTs, através de seus grupos funcionais (JACOBS, 2010).

Viswanathan (2009) desenvolveu um biossensor para a determinação de pesticidas organofosforados (metil paration e chlorpyrifos) baseado em CNTs. A base do biossensor é a reação enzimática de AChEacetylcholine, que causa um mudança no pH na região do elétron. Assim, os pesticidas são determinados através da inibição da reação enzimática.

Biossensores ópticos

Biossensores ópticos são instrumentos poderosos de detecção, atuando como ferramentas versáteis para análises. Isso se dá devido a seu baixo nível de ruído, baixa necessidade de volume de reagente e por serem refratários à interferência eletromagnética, são capazes de ser acessados remotamente, promovendo análises múltiplas em um único equipamento (FAN, 2008).

Esse tipo de biossensor constitui grande promessa para construção de equipamentos com alta performance na detecção de analitos relacionados ao diagnóstico médico (câncer, alergia, infarto, anticorpos, drogas e hormônios (JUSTINO et al, 2010).

Velasco-Garcia (2008) reporta que avanços recentes em nanotecnologia contribuem para o desenvolvimento de fibras ópticas em nível submícron, permitindo mensuração de células individuais. De acordo com Kuswandi (2001), poucas são as análises desse tipo realizadas, e medições *in vivo* são ainda mais raras.

Biossensores piezoelétricos

Este tipo de biossensor emprega materiais que ressonam quando da aplicação de um campo elétrico externo (TU, 2008). Mais comumente cristais de quartzo são utilizados, pois produzem um campo elétrico oscilante, que ressoa na frequência do cristal, dependendo de sua natureza química, tamanho, forma e massa (FARRÉ, 2009).

Neste tipo de biossensor, a interação de um analito com um anticorpo imobilizado no cristal de quartzo muda a massa do cristal, o que leva a uma mudança de frequência. Um importante tipo de biossensor piezoelétrico é o quartzo-cristal microbalance (QCM). Neste biossensor, a interação antígeno-anticorpo ocorre na superfície do cristal, que possui um circuito oscilatório, assim a mudança na massa do cristal leva à mudança na frequência de ressonância. O QCM responde a mudanças na massa e essas mudanças ocorrem na grandeza de nanogramas (10^{-9} g), o que implica que esses equipamentos têm sido utilizados em uma gama de aplicações

médicas, graças a sua alta sensibilidade e fácil operação (). Porém, esse tipo de biossensor apresenta limitações como dificuldade na calibração ().

Recentemente, Araújo, Martínez e Luna (2013) relataram o desenvolvimento de um biossensor baseado em ensaio imunoenzimático, utilizando placas de ouro e QCM preparado com solução de quitosana para avaliar a interação quitosana-IgG. No referido estudo, os autores mostraram que a quitosana foi mais eficiente para imobilização de IgG em suporte de ouro do que em ensaios imunoenzimáticos comuns ou mesmo com o suporte de ouro apenas.

Recentes avanços na pesquisa com biossensores

Ceccheto (2015) desenvolveu um biossensor eletroquímico para dengue, onde o biomarcador para dengue, NS1, pode ser detectado. Em seus resultados, os autores indicaram que esse biossensor poderá ser usado como uma ferramenta confiável para o diagnóstico da doença, uma vez que o mesmo possibilitou a dosagem deste biomarcador específico em soro.

No trabalho em que demonstra o desenvolvimento de um biossensor eletroquímico de DNA para a detecção do papilomavírus bovino, utilizando DNA viral, Nascimento (2012) mostrou que o mesmo apresentou alta sensibilidade e especificidade. Este é um biossensor modificado, onde a superfície de ouro foi caracterizada por pulso voltamétrico diferenciado.

Um novo biossensor eletromagnético controlável desenvolvido por Wang (2013), para a detecção de câncer oral, mostrou-se altamente sensível e seletivo, de fácil fabricação,

conveniência operacional, com baixo tempo para análise, boa estabilidade e reutilização. Este biossensor foi capaz de detectar miRNA, de maneira não-invasiva, através da simples coleta de saliva.

Em relação aos sensores ópticos com aplicações em saúde, Algaar (2015) desenvolveu um biossensor para a detecção de CCHF IgG (anticorpo específico de indivíduos com a febre do Congo), com o intuito de otimizar protocolos de imobilização e a formulação do substrato quimioluminescente. Seus resultados mostraram que o biossensor modificado aumentou em 100x a sensibilidade de detecção para o referido anticorpo, em soro de indivíduos acometidos pela doença. Além disso, este equipamento apresentou-se 10x mais sensível que o ELISA, o que o torna uma excelente ferramenta alternativa a este método, pois permite melhor detecção dos níveis de IgG, por identificar menores quantidades do anticorpo nos primeiros estágios da infecção.

Biossensores ópticos têm sido dirigidos a diversos marcadores do câncer de pulmão, e a tecnologia tem sido melhorada graças à investigação química e aplicações nanotecnológicas.

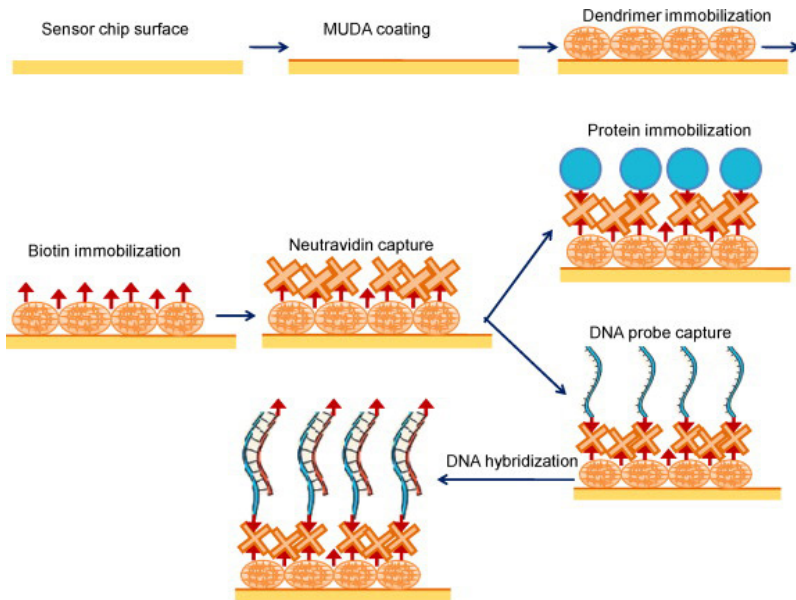


Figura 4- Esquema de ação de um Biosensor Pizoelétrico

Fonte: Altintas e Tothill (2013).

Como referido anteriormente neste texto, o câncer de mama foi o primeiro a ser identificado no antigo Egito (BUSHAK, 2015), sendo assim, não é de se surpreender que o mesmo seja o mais estudado tanto quanto a métodos de diagnósticos, como para desenvolvimento de novas drogas. O câncer de mama representa um significativo agravo à saúde pública, graças a sua alta prevalência (ARIF, 2015).

No que diz respeito aos biossensores piezoelétricos, o câncer de mama, Arif (2015) relata o desenvolvimento de um aparato candidato a detecção primária da doença, assim como o monitoramento do progresso da mesma e sua reincidência (Figura 5).

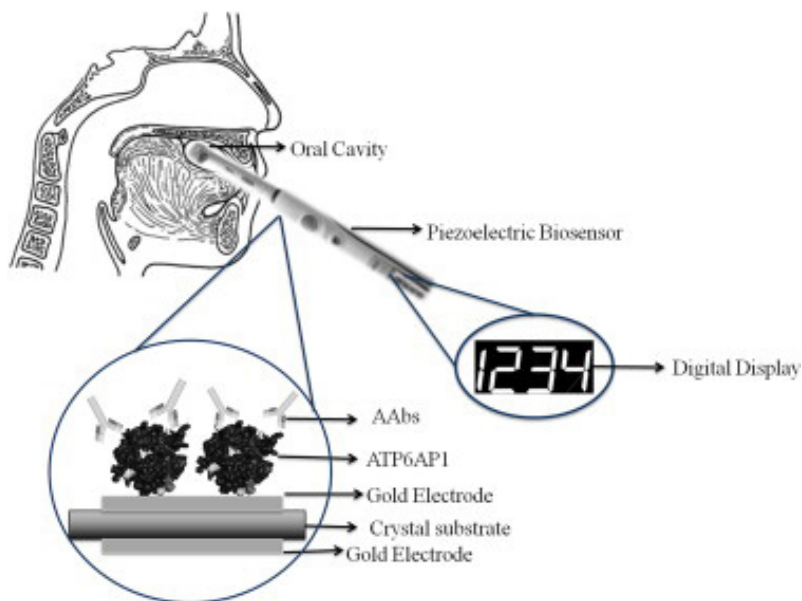


Figura 5- Detecção de câncer de mama utilizando autoanticorpos da saliva contra ATP6AP1. O design hipotético de um biossensor piezoelétrico na forma de escova de dentes é mostrado. A superfície da interface sensível imobiliza ATP6AP1, na qual um cristal de quartzo fica localizado entre eletrodos de ouro.

Fonte: Arif (2015).

Biossensores piezoelétricos do tipo QCM detectam até mesmo ínfimas quantidades de compostos. Para o câncer de mama, autoanticorpos contra o marcador ATP6AP1 podem ser detectados em saliva, utilizando-se essa metodologia. Esse tipo de equipamento, de fácil manuseio, é de suma importância por aplicar uma metodologia não invasiva, o que ajuda a mulheres relutantes por realizar exames de rotina, tanto por questões emocionais, convencionais ou religiosas. Dessa maneira, biossensores compõem ferramentas importantes,

uma vez que, com pouca quantidade de amostra e grande poder de detecção, podem levar ao diagnóstico preciso de uma doença mesmo durante o tratamento, o que dá ao paciente melhores chances de recuperação (ARIF, 2015).

Araújo, Martínez, Luna et al. (2012) relatam um imunossensor QCM do tipo piezoelétrico modificado. Neste estudo, o QCM recebeu um filme de quitosana como suporte para a ligação do anticorpo IgG. Os resultados mostraram que houve uma melhor imobilização do anticorpo quando a quitosana foi utilizada, causando uma variação de frequência no QCM de 24.34% (± 0.75) *variation in crystal frequency*. Dessa forma, a estrutura da quitosana mostrou-se eficiente para a imobilização para este tipo de aparato.

É importante lembrar que os biossensores são desenvolvidos principalmente no que diz respeito a doenças de caráter epidemiologicamente relevante. Neste contexto, deve-se levar em consideração o desenvolvimento de biossensores para a detecção de envenenamentos causados por serpentes. Essa é uma área importante da ciência por apresentar-se como um agravo relevante à saúde pública, principalmente em países em desenvolvimento ou subdesenvolvidos (THE SNAKEBITE INITIATIVE, 2017), e por o tema 'biossensores' ainda ser pouco estudado por pesquisadores da Toxinologia (área da ciência que estuda os venenos de origem animal).

Especialidades de biossensores

Em 2014, Schneider desenvolveu um biossensor para a detecção do veneno da serpente *Bothrops atrox*. Nesse trabalho, o autor relata, pela primeira vez, um biossensor funcional utilizado para a seleção de anticorpos monoclonais contra

toxinas específicas de um veneno em particular: metaloproteases (SVMPs). Além disso, o autor chama a atenção para o fato de que, em se tratando de veneno de serpente, reconhecimento cruzado pode ocorrer, o que dificulta o diagnóstico em áreas onde coabitam animais do mesmo gênero, ou família. Dessa maneira, esse primeiro biossensor vem a ser um advento importante para o rápido e específico diagnóstico desse tipo de agravo em áreas de risco.

Ainda em 2014, Vitoreti desenvolveu um biossensor do tipo eletroquímico para a detecção de toxinas de serpente, utilizando veneno da espécie *Bothrops jararaca*. No referido trabalho, também pioneiro, o biossensor apresentou picos voltamétricos compatíveis com a interação Antígeno-Anticorpo.

Nesse sentido, e com a premente preocupação em relação à demora para o diagnóstico preciso quando se trata de envenenamento ofídico, Lira et al (2016) objetivaram o desenvolvimento de um sistema de identificação de veneno de serpente do tipo gênero-específico, utilizando anticorpos presentes no soro comercial fabricado no Brasil. O método consiste em adsorver a uma membrana de nitrocelulose (NTC) o antígeno e submeter esse sistema ao anticorpo, soro antiofídico comercial.

Os resultados mostraram que esse sistema foi capaz de diferenciar os soros comerciais (antibotrópico - SAB, antibotrópico-laquético - SABL, anticrotálico - SAC e antielapídico - SAE) frente ao veneno da serpente da espécie *Bothrops erythromelas* (Figura 6).

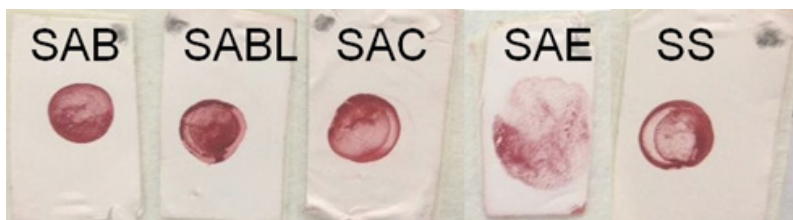


Figura 6- Padrão de reconhecimento entre o veneno da serpente *B. erythromelas* e os soros comerciais brasileiros (ver texto)

Fonte: Lira et al (2016).

Como observados na figura 6, os soros comerciais SAB e SABL apresentaram um alto reconhecimento quando incubado ao veneno da serpente *B. erythromelas*. O soro SAC apresentou algum grau de reconhecimento, porém, visualmente, essa identificação, de acordo com a metodologia empregada, não se mostra eficiente para a diferenciação. Isso é explicado porque os gêneros *Bothrops* e *Crotalus* estão muito próximos filogeneticamente, pertencem à mesma família.

Quando o veneno da serpente *B. erythromelas* foi adsorvido à membrana de NTC, e submetido ao soro antielapídico (SAE), percebe-se que o reconhecimento é pobre, gerando a visualização turva da ligação antígeno-anticorpo. Isso se dá pela distância filogenética entre as duas famílias às quais pertencem essas serpentes: Viperidae e Elapidae.

Esse imunossensor ainda está em fase de desenvolvimento e ajustes, sendo esta a primeira vez em que é citado em uma publicação. Esse tipo de aparato vem na vanguarda do desenvolvimento de biossensores, os quais precisam ter características bastante específicas antes de serem propostos: tipo de ligação, especificidade, rapidez, miniaturização, importância na epidemiologia das doenças/agravos.

Referências

ALGAAR, F., ELTZOV, E.; VDOVENKO, M. M.; et al. Fiber-optic immunosensor for detection of Crimean-Congo Hemorrhagic fever IgG antibodies in patients. **Anal. Chem.**, DOI: 10.1021/acs.analchem.5b01728 • Publication Date (Web): 07 Jul. 2015. (Just Accepted Manuscript •).

ALTINTAS, Z.; TOTHILL, I. **Biomarkers and biosensors for the early diagnosis of lung cancer**. *Sensors and Actuators B* 188, p.988-998. 2013.

ARAÚJO, R. F. Frade de; MARTÍNEZ, C. R.; LUNA, K. P. de O. et al. Chitosan polymer as support to IgG immobilization for piezoelectric applications. **Applied Surface Science**, n.274, p.33– 38, 2013.

ARIF, S.; QUDSIA, S. S. U.; CHAUDRY, N. Blueprint of quartz crystal microbalance biosensor for early detection of breast cancer through salivary autoantibodies against ATP6AP1. **Biosensors and Bioelectronics**, v.65, p.62–70, 2015. Disponível in:

<<http://www.snakebiteinitiative.org/>>. Access in: 09 may 2017.

BORREBAECK, C. A. K., **Immunology Today**, v.21, n.8, p.379, 2000.

C. Hu, S.; HU, J. **Sensors** 2009 (2009) 1. Jacobs, C. B.; Peairs, M. J.; Venton, B. J.; *Anal. Chim. Acta*, n. 662, p. 105, 2010.

CECCHETTO, J.; CARVALHO, F. C.; SANTOS, A. et al. An impedimetric biosensor to test neat serum for dengue diagnosis. **Sensors and Actuators B**, n. 213, p.150–154. p.2015.

GUTMAN, Hayes D. F. B.; KORTE, J. L.; LANDERS, D. et al. **Biosensors and Bioelectronics**, n.21, p.1932, 2006.

HUCKLE, D. **Expert Review of Medical Devices**, n.3, p.421, 2006.

Soper, S. A.; Brown, K. A.; Ellington, B. Frazier, G. Garcia-Manero, V. Gau, S.I.; Hayes, D. F.; Wang, J.; Wilson, D. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 21, p.1932, 2006.

JUSTINO, C. I. L.; ROCHA-SANTOS, T. A.; DUARTE, A. C.. Review of analytical figures of merit of sensors and biosensors in clinical applications. **Trends in Analytical Chemistry**, v.29, n.10, 2010.

KUSWANDI, B.; ANDRES, R.; NARAYANASWAMY, R. **Analyst**, Cambridge, UK, n.126, p.1469, 2001.

LIRA, F. D.; LUNA, K. P. O. **Avaliação da neutralização dos soros comerciais brasileiros frente ao veneno da serpente *Bothrops erythromelas***. Trabalho de Conclusão de Curso, Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Estadual da Paraíba, 2016.

M. Farre L.; KANTIANI, S.; PE´REZ, D. Barcelo. **Trends Anal. Chem.**, n. 28, p.170, 2009.

NASCIMENTO, G. A.; SOUZA, E. V. M.; CAMPOS-FERREIRA, D. S. et al. Electrochemical DNA biosensor for bovine papillomavirus detection using polymeric film on screen-printed electrode. **Biosensors and Bioelectronics**, n.38, p.61–66, 2012.

SCHNEIDER, F.S; NGUYEN, D.L.; CASTRO, K.L. et al. Use of a Synthetic Biosensor for Neutralizing Activity Biased Selection of Monoclonal Antibodies against Atroxlysin I, an Hemorrhagic Metalloproteinase from Bothrops atrox Snake Venom. **PLoS Negl Trop Dis**, v.8, n.4, p.2826, 2014.

THÉVENOT, D. R. K.; TOTH, R. A.; DURST, G.S. Wilson, *Biosens. Bioelectron*, n.16, p.121, 2001.

TU, X.; XIE, Q.; JIANG, S.; YAO, S. *Biosens. Bioelectron*, n.22, p.2819, 2007.

VELASCO-GARCIA, M. N. *Seminars Cell Dev. Biol.*, n.20, p.27, 2009.

VISWANATHAN, S.; RADECKA, H.; JERZY Radecki. Electrochemical biosensor for pesticides based on acetylcholinesterase immobilized on polyaniline deposited on vertically assembled carbon nanotubes wrapped with ssDNA. **Biosensors and Bioelectronics**, n. 24, p.2772–2777, 2009.

VITORETI, A. B. F. **Desenvolvimento de um imunossensor eletroquímico para identificação de toxinas de serpente**. (Dissertação). Instituto de Química: São Carlos:, Universidade de São Paulo, 2014.

Fan X.; White I.M.; Shopova S.I.; Zhu H.; Suter J.D.; Sun Y., **Anal. Chim. Acta** 620, p.8, 2008.

WANG, Z. W.; ZHANG, J., Guo, Y., Wua, X. Y., Yang, W.J., Xu, L.J., Chen, J. H., Fu, F. F. A novel electrically

magnetic-controllable electrochemical biosensor for the ultra sensitive and specific detection of attomolar level oral cancer-related micro RNA. **Biosensors and Bioelectronics**, n .45, p.108-113, 2013.

TERAPIA GÊNICA E CÂNCER

Os genes são os responsáveis por grande parte das doenças humanas, através da ausência ou excesso de codificação de determinadas proteínas, codificações equivocadas de proteínas anormais, deixando o organismo suscetível aos agentes ambientais externos (VICENTINI et al., 2013).

A instabilidade genômica das células cancerosas é caracterizada por defeitos como translocação, aneuploidias, perdas cromossômicas, amplificação de DNA e deleções cromossômicas. Essas células defeituosas apresentam defeitos cromossômicos específicos que, através de sua análise, pode-se chegar ao diagnóstico do tipo e estágio que o câncer encontra-se. A Leucemia Mieloide Crônica é um bom exemplo dessa explanação, uma vez que a translocação específica do gene C-ABL do cromossomo 9 para o gene BCR-ABL do cromossomo 22, criando uma estrutura conhecida como cromossomo Philadelphia. Através dessa translocação recíproca, a fusão dos genes provoca a produção de uma molécula anormal transdutora de sinal que estimula a constante proliferação de células com Leucemia Mieloide Crônica, mesmo com a ausência de sinais externos de crescimento. Inúmeros outros fatores como o conceito de fenótipo mutator e a hereditariedade de inúmeros cânceres nos leva a atentar que os defeitos hereditários nos genes

que controlam a reparação por excisão de nucleotídeos e a reparação dos erros de pareamento do DNA levam a altas taxas de câncer, fornecendo sustentação à ideia de que há uma implicação de um fenótipo mutador, contribuindo para o desenvolvimento do câncer (KLUG et al., 2010).

O campo da epigenética do câncer tem fornecido estudos com células cultivadas, partido inicialmente de células normais transformadas em cancerosas nas culturas, através da ação de agentes cancerígenos, radiação ou vírus. Uma das principais observações foi a da divisão celular em células normais (aproximadamente 50-60 vezes) e células cancerígenas (infinitamente) e no meio de divisão. No que se diz respeito ao meio de divisão, as células cancerígenas podem dividir-se em meios gelatinosos, enquanto células normais só conseguem dividir-se em meios sólidos. Esses estudos têm proporcionado uma melhor compressão dos fatores genéticos associados ao câncer. Outro exemplo deles é o estudo dos fatores que afetam a expressão genética de forma herdável, com uma visão mais restrita à metilação do DNA e às modificações das histonas, no que se diz aos processos de acetilação e de fosforilação. Quando voltamos nossa atenção às células cancerosas, esses estudos demonstraram que alterações importantes na metilação do DNA estão diretamente ligadas ao desenvolvimento de cânceres, uma vez que o total de metilação no DNA é muito menor em células cancerosas do que em células normais (DE ROBERTIS et al., 2008).

A susceptibilidade das células cancerígenas em acumular mutações foi observada em páginas anteriores. Em células cancerosas, há duas categorias principais de genes descobertos: os genes supressores de tumor e os proto-oncogenes.

O conhecimento a respeito do mecanismo de ação dos genes supressores de tumor ainda é desconhecido, no entanto, as primeiras indicações da existência desses genes foram obtidas por meio de cultura de células quando se observou a fusão de uma célula maligna com uma célula normal, gerando uma célula híbrida, sem malignidade. Os oncogenes codificam proteínas que promovem a multiplicação das células, que se convertem em malignas, ou seja, em condições normais são genes que participam do controle da proliferação celular para constituir os tecidos do organismo. Quando esses oncogenes atuam de forma normal, recebem a denominação de proto-oncogenes, quando alterados e produzem proteínas em ocasiões não necessárias, ou quando formam proteínas modificadas, originam tumores e passam a ser denominados oncogenes (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2005).

Alguns dos genes mais frequentemente mutados em tumores humanos são os da família gênica Ras. Essa família codifica moléculas de transdução de sinais que estão associadas à membrana celular e regulam o crescimento e a divisão celular. Mutadas em mais de 50% dos tumores humanos, atenuam no processo de crescimento, ou seja, quando a célula encontra um fator de crescimento derivado das plaquetas, os receptores de fator na membrana celular ligam-se a estes, resultando em uma autofosforilação da porção citoplasmática do receptor. Essa autofosforilação ativa o recrutamento de algumas proteínas que ativam a Ras, onde esta envia sinais por meio de cascatas de fosforilação de proteínas, no citoplasma, ativando fatores de transcrição nucleares que, por sua vez, estimulam a expressão de genes que levam a célula em aquiescência. No câncer, essa

proteína está sempre ativa, estimulando a célula a dividir-se constantemente (KLUG et al., 2010).

Um dos primeiros genes a ser estudado foi o do retinoblastoma. O gene relacionado com o retinoblastoma é denominado RB. Esse tipo de câncer ocorre em crianças de forma maligna. Em adultos a taxa de incidência é diminuta devido a não proliferação das células que originam esse tumor. O RB ocorre em todas as células do corpo, caso seja hereditária, e há uma deleção de um pequeno pedaço do cromossomo 13, um dos pares. No outro par, geralmente esse pedaço está intacto. A susceptibilidade em crianças ocorre devido a ter ao menos essa mutação em um cromossomo para que o desenvolvimento do tumor ocorra, diferentemente, do adulto que é necessária a mutação nos dois cromossomos. Em estudos posteriores, identificou-se que a perda ou mutação do gene RB1 contribui significativamente para o desenvolvimento de muitos cânceres, inclusive de mama, ósseo e pulmonar. Esse gene geralmente produz uma proteína denominada de pRB, uma proteína supressora de tumor que controla o ponto de controle G1/S do ciclo de vida celular. Em células normais, há o controle e impedimento da passagem das fases, no entanto, em células cancerosas, o defeito no gene RB1, inativação ou deleção faz com que não haja essa regulação (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2005).

Os proto-oncogenes *cyclin D1* e *cyclin E* são sintetizadas e degradadas durante o ciclo celular. Eles formam complexos juntamente com CDK, gerando complexo CDK/ciclina – reguladores do ciclo de vida celular. Esses genes, especialmente por sua atividade reguladora, estão relacionados a vários tipos de câncer, como, por exemplo, o câncer de

mama com o gene modificado de ciclina D1 e o de cólon com o gene modificado da ciclina E (KLUG et al., 2010).

Outro gene supressor de tumor associado ao câncer é o p53. Sua denominação se dá porque ele codifica uma proteína com peso molecular de 53 kDa (quilodáltons). Aproximadamente 50% de todos os tumores malignos humanos apresentam mutação ou deleção do gene p53, bem como tumores com p53 defeituoso são mais invasivos e fazem muitas metástases. Há cerca de mil possíveis mutações associadas a esse gene, e essas informações servem para indicar a sensibilidade do gene a mudanças na sequência de aminoácidos. Esse gene exerce papel de fator de transcrição, promovendo a expressão dos genes de outras proteínas reguladoras, como no caso do p21 e p16 – inibidores da ação enzimática da enzima CDK2. A enzima CDK não fosforiza ciclina, impedindo a transição da fase G1 para a subsequente. Além da atividade reguladora, é importante ressaltar a ativação da apoptose por esse gene (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2005).

Observando a atividade desses genes, a tecnologia genética vem desenvolvendo alvos terapêuticos visando a esses alvos gênicos. É importante observamos que o desenvolvimento dessas tecnologias tem sido abundante e acaba repercutindo de forma positiva para a sociedade, uma vez que a partir desses dados, podemos, de fato, achar instrumentos e alternativas terapêuticas para o combate ao câncer.

A terapia gênica contra o câncer é um tratamento baseado na transferência de genes terapêuticos (transferência de moléculas de DNA e RNA) nas células cancerígenas, para tornar o crescimento lento ou cessar a progressão da malignidade (KARJOO et al., 2016; VICENTINI et al., 2013).

Assim, a terapia gênica pode interferir nessas mudanças de expressão, através de sequências *anti-sense* e ribozimas, que modulam a expressão dos genes selecionados e suprimem o comportamento maligno de células cancerígenas (BRANNON-PEPPAS; BLANCHETTE, 2012).

Apesar das grandes vantagens da terapia gênica, as sequências de DNA e RNA usadas para tal apresentam algumas limitações, tais como: (1) baixa taxa de transfecção celular, (2) rápida degradação enzimática e, conseqüentemente, curto tempo de meia-vida, (3) biodisponibilidade insuficiente. Sendo assim, o grande desafio é o desenvolvimento de vetores clinicamente adequados, seguros e efetivos para otimizar a entrega dessas moléculas no organismo (VICENTINI et al., 2013).

Assim, há necessidade de um carreador que facilite a entrada do DNA nas células vivas. Esse veículo é denominado “vetor”. Há três classes principais de vetores atualmente em desenvolvimento: plasmídeos, vetores virais e vetores nanoestruturados.

Os plasmídeos são sequências de DNA relativamente simples, porém eficazes para expressão de genes, nas quais é possível inserir um gene terapêutico por técnicas de DNA recombinante. No entanto, para a introdução de plasmídeos, é preciso fragilizar a membrana celular (LINDEN, 2010).

Desse modo, Gebremedhin et al. (2014) utilizaram plasmídeos codificantes no vírus da herpes para quinase, através dos vetores de fácil monitoramento: metafecteno e FuGENE HD, seguidos por tratamento com ganciclovir (adjuvante) para terapia de gene suicida para carcinoma de células escamosas orais.

Os vetores virais, por sua vez, têm a capacidade natural de penetração nas células, bem como a ocorrência mais

facilitada de depósito de material genético, mostrando-se mais eficiente quando comparado aos vetores não-virais. Contudo, a utilização de sistemas virais apresenta algumas limitações, sendo a principal delas os possíveis erros na manipulação e administração de vírus (GRIMM; KAY, 2007). Assim, faz-se necessário achar o gradiente de concentração entre a administração do vírus e sua potencialidade no organismo (SMADJA et al., 2013).

Como exemplo de sua grande eficácia, a utilização de adenovírus para a terapia gênica está sendo amplamente explorada pelos novos recursos hoje empregados. A utilização de Ad5/3-D24-GMCSF (*Serotype 5/3 chimeric oncolytic adenovirus expressing granulocyte macrophage colony-stimulating factor*) por Koski et al. (2010) demonstrou a eficácia do adenovírus em promover a morte de células de câncer de mama, pulmão, rim e pâncreas, recrutando células *Natural Killer*, bem como, Linfócitos-T citotóxicos. A ação do Ad5 também foi observada agindo contra células do câncer de próstata, utilizando o Ad5/3-mda-7 (DASH et al., 2010).

Por fim, os vetores nanoestruturados utilizam polímeros para a formação de sistemas capazes de protegerem as sequências de ácidos nucleicos das condições desfavoráveis do meio extracelular e de liberá-las no local e/ou momento desejado. Esses vetores podem ser enriquecidos com moléculas que ajudem a especificar em que tipos de células o conteúdo poderá penetrar (COSTANZI-STRAUSS; STRAUSS, 2015; LINDEN, 2010).

Chang et al (2011) desenvolveram nanopartículas poliméricas para o carregamento de RNAi para o gene Mcl-1 em linhagens de células KB de carcinoma epitelial humano. O nanossistema aumentou a atividade antitumoral *in vitro*,

reduzindo a viabilidade das células tumorais em aproximadamente 81%.

Nessa perspectiva, com o avançar das pesquisas na cancerologia, novos alvos terapêuticos foram sendo descobertos, gradativamente, e novas estratégias terapêuticas foram sendo delineadas. Assim, a terapia gênica pôde fazer uso de diferentes tipos de moléculas, tais como as sequências de DNA, os RNAs de interferência e os MicroRNAs.

Sequências de DNA

A reparação aos danos no DNA é um processo complexo que depende de vias particulares para cada tipo específico de dano. A terapia mediada por DNA demonstra um grande potencial anticâncer, visto que contribui para a estabilidade genética, reparando mutações em genes que codificam proteínas responsáveis pela instabilidade genética e evitam o consequente desenvolvimento de tumores (GAVANDE, 2016).

Kuo et al (2015) desenvolveram um adenovírus recombinante para carrear sequências de DNA de domínios do gene do plasminogênio humano. O estudo demonstrou uma forte inibição de metástase pulmonar no modelo de melanoma B16F10 em ratos.

O fator de crescimento derivado de epitélio pigmentado (PEDF, *Pigment Epithelium-derived Fator*) é um inibidor muito potente da angiogênese. Sendo assim, a entrega intratumoral da sequência gênica de PEDF, através de um adenovírus em um modelo de carcinoma pulmonar de Lewis (LCC) em ratos, conduziu a uma redução de 58% no tamanho tumoral, reduziu a densidade de microvasos e aumentou a necrose de células tumorais (HE et a., 2012).

A endostatina e angiostatina são inibidores endógenos da angiogênese, que impedem fatores pró-angiogênicos de interagir com as células endoteliais. A entrega intratumoral de sequências gênicas da endostatina, por meio de um adenovírus em modelo de câncer de bexiga em ratos, produziu uma redução de 40% no volume do tumor e uma redução de 60% na angiogênese tumoral, bem como, o aumento da apoptose de células tumorais (PAN et al, 2011).

Chang et al. (2010) estudaram a entrega de IL-15, uma citocina capaz de estimular a resposta imune ao induzir a proliferação e a ativação das células NK e células T, por meio de um adenovírus em um modelo Hepatocarcinoma Celular (HCC) metastático em ratos, que levou a uma redução de 82% da metástase tumoral, além de uma maior sobrevida média de 41% sem toxicidade hepática aparente observada.

Embora resultados satisfatórios tenham sido gerados utilizando sequências de DNA, atualmente, as técnicas que utilizam essa molécula têm sofrido um desfalque, especialmente, pelos resultados promissores crescentes utilizando as moléculas de RNA.

Interferência por RNA

A interferência por RNA (RNAi) tem se consolidado como sucesso terapêutico, contribuindo para a compreensão sobre a dinâmica das neoplasias, trazendo consigo grandes promessas para as terapias anticâncer, particularmente, terapias personalizadas (WANG, 2010).

Para a RNAi, há a ação de duas ferramentas diferentes. Uma delas são os microRNAs, denominados repressão

traducional, em que o pareamento incompleto leva à interrupção da tradução. A segunda ferramenta são os *small interference RNAs* (siRNA), onde a molécula de RNA é perfeitamente ou quase perfeitamente complementar ao RNAm alvo, provocando a degradação do mesmo. A ação dessas ferramentas pode ser observada a partir de seus avanços em testes clínicos (FRANÇA et al, 2010).

Small Interference RNAs (siRNAs)

A geração dos siRNAs ocorre com a introdução celular exógena de um fragmento na forma de dsRNA (*double strand RNA*), que será clivado no interior celular pela enzima Dicer (família RNase III), em um processo dependente de ATP, em siRNAs de aproximadamente 21-23 bases. Após a geração dessas moléculas, estas são incorporadas a proteínas celulares formando um completo multimérico chamado RISC (*RNA Induced Silencing Complex*) (PEER; LIEBERMAN, 2011).

No complexo RISC, há uma proteína denominada Argonata 2 que, por sua vez, seleciona a fita do siRNA que será incorporada ao complexo e apresenta atividade de endonuclease dirigida contra a fita de RNAm alvo. A fita *sense* é eliminada e a fita *antisense* guia o complexo até o RNAm alvo (VICENTINI et al, 2013).

Como a sequência de bases nas moléculas de siRNA é perfeitamente complementar à sequência de bases nas moléculas do RNAm alvo, o complexo RISC cliva o referido RNAm, degradando-o. O complexo enzimático provoca hidrólise e degradação da molécula inibindo a expressão do gene específico (ZHOU et al, 2012).

Estudos em modelo de câncer de bexiga em ratos utilizaram a ação do RNAi para silenciar a survivina e PLK1-RNAi (RNA mensageiro da *Polo-Like Kinase 1*), mostrando o potencial terapêutico através da apoptose de células cancerígenas (SETH et al., 2011).

Em duas linhagens de células de câncer de ovário (SKOV3; HEY), Lin et al (2012) observaram que a expressão de NOB1 foi diminuída por um sistema de entrega com RNAi, mediando a regulação negativa da expressão de NOB1, reduzindo a capacidade proliferativa e formação de colônia cancerígenas.

Chen (2010) relatou que, em câncer pancreático, a supressão de EZH2 (*Enhancer of Zeste Homologue 2*) por RNAi causou inibição significativa de células tumorais *in vitro*. No entanto, na fase de testes clínicos, houve carcinogênese, demonstrando limitações ainda não superadas.

Além disso, Zhao et al (2010) observaram que ao silenciar o PDGF-D (*Platelet derived growth factor D*) usando o RNAi, houve uma redução na proliferação e nas invasões potenciais de células de câncer gástrico.

MicroRNAs

Os microRNAs propiciam uma nova oportunidade para o tratamento do câncer, baseando-se em um conceito relativamente simplificado: a introdução de microRNA em células cancerosas reativas, vias celulares que impulsionam uma resposta terapêutica eficaz (BADER et al, 2010).

A produção de miRNAs ocorre através da transcrição de genes endógenos pela RNA polimerase II em um microRNA primário (pri-miRNA), que então é clivado por um complexo

proteico formado pela enzima Drosha (membro da família RNase III) e pela proteína DGCR8 (*DiGeorge Syndrome Critical Region 8 protein*) resultando no microRNA precursor (pré-miRNA), de aproximadamente 70 pares de bases, com uma região dupla fita e uma alça fita simples, formando uma estrutura denominada *hairpin* (FRANÇA et al, 2010).

O pré-miRNA é exportado para o citoplasma celular pela exportina-5 e, nessa região, é clivado pela enzima Dicer, gerando um miRNA com cerca de 22 nucleotídeos. Da mesma forma que o ocorrido no siRNA, há a formação do complexo RISC e, dependendo da complementariedade das bases entre o miRNA e o RNAm, este pode ser degradado ou ter a sua tradução apenas bloqueada (VICENTINI et al, 2013).

Bader et al (2010) formularam uma terapia sintetizando quimicamente o microRNA-34a que bloqueou o crescimento de tumores de câncer de pulmão em camundongos, demonstrando eficácia quando administrada localmente ou sistemicamente. Kim et al (2011) determinaram a potencialidade terapêutica do microRNA-145 contra o câncer de mama, encontrando uma correlação inversamente proporcional entre a expressão do microRNA-145 e seus genes alvo, concluindo-se em testes *in vivo* e *in vitro* que a aplicação do mesmo suprimiu o crescimento celular.

Liu et al (2011) constataram que microRNA-34a inibiu a metástase de células do câncer de próstata e gerou uma sobrevivência prolongada nos ratos portadores da patologia, demonstrando seu poder terapêutico para esse tipo de câncer.

Zhang et al (2012) investigaram o significado clínico do microRNA-542-3p (miRNA-542-3p) e do gene alvo da

survivina no câncer de bexiga humano, onde destacaram que a expressão do gene da survivina desempenha papel crucial na progressão agressiva do câncer, destacando que o miRNA-542-3p pode funcionar como um supressor tumoral, inibindo a proliferação de células cancerosas.

A terapia gênica tem resultado em avanços significativos na terapêutica do câncer. No entanto, outras tecnologias têm galgado rumos promissores para o tratamento dessa patologia. Dentre elas, podemos destacar a encapsulação de fármacos anticâncer convencionais para melhorar as propriedades terapêuticas.

Referências

BADER et al. MiR-34 - a microRNA replacement therapy is headed to the clinic. **Frontiers in Genetics**, USA, v. 3, p.1-9, 2012.

BRANNON-PEPPAS, L.; BLANCHETTE, O. Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy. **Advanced Drug Delivery Reviews**, USA, v. 64, p.206-212, 2012.

CHANG et al. Treatment of hepatocellular carcinoma with adeno-associated virus encoding interleukin-15 superagonist. **Human Gene Therapy**, Taiwan, v. 21, n. 5, p. 611-621, 2010.

CHANG et al. Cationic drug-derived nanoparticles for multifunctional delivery of anticancer siRNA. **Biomaterials**, Korea, v. 32, n. 36, p. 9785-9795, 2011.

CHEN et al. Cyclin-dependent kinases regulate epigenetic gene silencing through phosphorylation of EZH2. **Nature Cell Biology**, USA, v. 12, n. 11, p.1108-1114, 2010.

COSTANZI-STRAUSS, E.; STRAUSS, B. E. Perspectivas da terapia gênica. **Revista Médica**, São Paulo, v. 4, n. 94, p.211-222, 2015.

DASH et al. Enhanced delivery of mda-7/IL-24 using a serotype chimeric adenovirus (Ad.5/3) improves therapeutic efficacy in low CAR prostate cancer cells. **Cancer Gene Therapy**, USA, v. 17, n. 7, p.447-456, 12 fev. 2010.

FRANÇA et al. Interferência por RNA: uma nova alternativa para terapia nas doenças reumáticas. *Revista Brasileira de Reumatologia*, Brasil, v. 6, n. 50, p.695-709, 2010.

GAVANDE et al. DNA repair targeted therapy: The past or future of cancer treatment? **Pharmacology & Therapeutics**, USA, v. 160, p.65-83, 2016.

GEBREMEDHIN et al. Gene delivery to carcinoma cells via novel non-viral vectors: Nanoparticle tracking analysis and suicide gene therapy. **European Journal Of Pharmaceutical Sciences**, USA, v. 60, p.72-79, 2014.

GRIMM, D.; KAY, M. A. Therapeutic application of RNAi: is mRNA targeting finally ready for prime time? **Journal Of Clinical Investigation**, USA, v. 117, n. 12, p.3633-3641, 3 dez. 2007.

HE et al. AAV-mediated gene transfer of human pigment epithelium-derived factor inhibits Lewis lung carcinoma growth in mice. **Oncology Reports**, China, v. 27, n. 4, p.1142-1148, 2012.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, José. **Biologia celular e molecular**. [s.l.]: Guanabara Koogan S.a., 2005.

KIM et al. Development of microRNA-145 for therapeutic application in breast cancer. **Journal Of Controlled Release**, Korea, v. 155, n. 3, p.427-434, 2011.

KLUG, William S. et al. **Conceitos de genética**. 9. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

ROBERTIS, de. **Biologia celular e molecular**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.a., 2003.

KOSKI et al. Treatment of Cancer Patients With a Serotype 5/3 Chimeric Oncolytic Adenovirus Expressing GMCSF. **Molecular Therapy**, Finland, v. 18, n. 10, p.1874-1884, 2010.

KUO et al. Development of Recombinant Adeno-Associated Virus Serotype 2/8 Carrying Kringle Domains of Human Plasminogen for Sustained Expression and Cancer Therapy. **Human Gene Therapy**, Taiwan, v. 26, n. 9, p. 603-13, 2015.

LINDEN, R. Terapia gênica: o que é, o que não é e o que será. **Estudos Avanzados**, Brasil, v. 24, n. 70, p.31-69, 2010.

LIU et al. The microRNA miR-34a inhibits prostate cancer stem cells and metastasis by directly repressing CD44. **Nature Medicine**, USA, v. 17, n. 2, p.211-215, 2011.

PAN et al. Suppression of bladder cancer growth in mice by adeno-associated virus vector-mediated endostatin expression. **Tumor Biology**, China, v. 32, n. 2, p. 301-310, 2011.

PEER, D.; LIEBERMAN, J. Special delivery: targeted therapy with small RNAs. **Gene Therapy**, Israel, n. 12, v. 18, p. 1-7, 2011.

REVISTA BRASILEIRA DE REUMATOLOGIA, Brasil, v. 6, n. 50, p.695-709, 2010.

SMADJA et al. Thérapie génique et cellulaire dans le traitement des pathologies ischémiques des membres inférieurs. **Transfusion Clinique Et Biologique**, France, v. 20, n. 2, p.211-220, 2013.

SETH et al. RNAi-based Therapeutics Targeting Survivin and PLK1 for Treatment of Bladder Cancer. **Molecular Therapy**, USA, v. 19, n. 5, p.928-935, 2011.

VICENTINI et al. Liquid crystalline phase nanodispersions enable skin delivery of siRNA. **European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics**, Brazil, v. 83, n. 1, p.16-24, 2013.

WANG et al. Delivery of siRNA Therapeutics: Barriers and Carriers. **The AAPS Journal**, USA, v. 12, n. 4, p. 492-503, 2010.

ZHANG et al. MicroRNA-542-3p suppresses cellular proliferation of bladder cancer cells through posttranscriptionally regulating survivin. **Gene**, China, v. 579, n. 2, p.146-152, 2016.

ZHAO et al. Quantifying the uncertainties of a bottom-up emission inventory of anthropogenic atmospheric pollutants in China. **Atmospheric Chemistry And Physics**, China, v. 11, n. 5, p. 2295-2308, 2011.

ZHOU et al. Deep sequencing Analyses of DsiRNAs Reveal the Influence of 3' Terminal Overhangs on Dicing Polarity, Strand Selectivity, and RNA Editing of siRNAs. **Molecular Therapy-Nucleic Acids**, USA, v. 1, p. 1-16, 2012.

NOVOS SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS

Na terapia, as drogas anticâncer podem atuar através de três mecanismos: (1) Danos ao DNA, (2) inibição da síntese de novas cadeias de DNA e (3) bloqueio da mitose ou da separação da célula original em duas novas células. Entretanto, essas drogas apresentam algumas limitações, tais como solubilidade, direcionamento ao alvo, dentre outras (JEETAH et al, 2014).

A utilização de sistemas nanoestruturados pode melhorar algumas propriedades terapêuticas das drogas. Dentre estas, pode-se destacar: (1) o melhoramento da solubilidade; (2) proteção contra a biodegradação e/ou excreção; (3) melhoramento da penetração e direcionamento da droga; (4) liberação da sua carga útil sobre estímulos sensíveis, por exemplo, o pH; (5) diminuição da resistência de tumores contra as drogas anticâncer (WICKI et al, 2015).

Estes sistemas têm de satisfazer alguns requisitos básicos para se qualificar como portadores adequados, como apresentar tamanho pequeno (<150 nm); área de superfície relativamente grande; baixa concentração crítica (ordem 10,5-10,6) e alta estabilidade física (JEETAH et al, 2014). Dentre os nanossistemas estudados atualmente, destacam-se os nanocarreadores poliméricos (nanopartículas e micelas poliméricas), nanocarreadores lipídicos (microemulsões e lipossomas), nanotubos, nanopartículas inorgânicas (sílica e

metal), conjugados (polímeros e anticorpos) e nanopartículas virais.

Desale et al (2013) desenvolveram uma micela polimérica biodegradável para veiculação de cisplatina e paclitaxel no tratamento do câncer de ovário. A formulação exibiu citotoxicidade sinérgica contra as células cancerosas e exerceu uma atividade antitumoral superior em comparação com os fármacos livres.

Razzazan et al (2016) formularam um nanotubo de carbono para veiculação de gencitabina, um agente anticâncer amplamente utilizado no tratamento de câncer de pulmão e pâncreas. Em um modelo de carcinoma pulmonar e pancreático humano, ensaios de citotoxicidade (MTT) demonstraram que a formulação foi mais citotóxica se comparada ao fármaco livre, apresentando uma maior eficácia na supressão do crescimento do tumor.

Zhou et al (2015) desenvolveram uma nanopartícula polimérica pH-sensível para carrear a Herceptina, que se liga especificamente ao antígeno HER2, superexpresso em alguns tipos de câncer de mama. Os experimentos demonstraram que mudanças no pH controlaram a liberação do agente terapêutico. Os testes *in vitro* em linhagens celulares de câncer de mama humano (MCF-7 e SK-BR-3) mostraram um aumento significativo para a absorção de nanopartícula, promovendo um maior efeito terapêutico.

Os polímeros conjugados apresentam propriedades de troca iônica, sendo considerados materiais promissores para uso como reservatórios de fármacos. Krukiewicz et al (2015) utilizaram conjugados poliméricos compostos de PEDOT (Poli-3,4-etilenodioxitiofeno) para carrear o ácido oleanólico, um composto com propriedades anticâncer. Este

procedimento produziu um aumento de 52% na capacidade de armazenamento do óleo.

Nayak et al (2016) produziram uma nanopartícula de prata para encapsular as vitaminas C e E, substâncias que não sintetizadas no nosso corpo e, quando encapsuladas, apresentam potencial anticâncer. As nanoformulações apresentaram uma alta eficiência de encapsulação (76%), uma maior atividade antioxidante e antitumoral em células de câncer da mama (MCF-7).

Nessa perspectiva, os sistemas nanoestruturados visam à otimização do potencial terapêutico de fármacos já estabelecidos no tratamento anticâncer, ou de substâncias novas com potencial antitumoral a ser explorado.

Perspectivas futuras

Kissinger (2005) diz que a pesquisa com biossensores sofre uma “crise de expectativa”. Ele justifica: “apesar de haver muitas pessoas trabalhando na área, não há uma forma de os grupos fazerem as mesmas medições, de forma confiável e mais acessível do ponto de vista econômico”. O biossensor para glicose, ele ressalta, é um sucesso comercial, uma vez que emprega concentrações de analitos 10-10.000 vezes menores que na pesquisa inicial, levando em consideração que o investimento financeiro para o desenvolvimento de biossensores é muito alto. Porém, frente a outras metodologias, os biossensores ganham sua maior importância: a miniaturização.

Apesar dessa qualidade, os biossensores ainda são os métodos de diagnóstico que ocupam o 4º lugar em termos de escolha (LAZCA, 2007). Os métodos mais utilizados são

baseados em contagem de colônias e cultura (para bactérias) (LEONI; LEGNANI, 2001) e PCR (BEJ, 1991). Isso se dá pelo fato de que esses métodos oferecem alta seletividade e confiabilidade.

Os biossensores, entretanto, constituem uma fonte de resultados igualmente confiáveis, com a vantagem de oferecer menor tempo de leitura de resultados (LAZCA, 2007). Entretanto, ainda há muito que se fazer em relação aos biossensores, eles substituem muito bem testes como o ELISA, que constitui um teste caro, do ponto de vista dos anticorpos e reagentes utilizados, além de ser um teste demorado.

Muitos biossensores utilizam anticorpos ou DNA, o que os torna aparatos altamente específicos.

Diante do exposto, fica claro que essa tecnologia, apesar de empregar alto custo monetário em sua pesquisa e desenvolvimento, sem dúvida, é um avanço no que diz respeito ao rápido diagnóstico de doenças, principalmente no que diz respeito a áreas de difícil acesso, graças, também, a sua vantajosa miniaturização.

Referências

BEJ, A .K.; MAHBUBANI, M.H.; DICESARE, J.L.; ATLAS, R. M. Appl. Environ. **Microbiol**, v.57, n.12. p.3529-3534, 1991.

DESALE et al. Biodegradable hybrid polymer micelles for combination drug therapy in ovarian cancer. **Journal of Controlled Release**, USA, v.171, n.3, p.339-348, 2013.

JEETAH et al. Polymeric nanomicelles for sustained delivery of anti-cancer drugs. Mutation Research, **Mauritius**, v.768, p. 47-59, 2014.

KISSINGER, P. T. Biosensors a perspective. **Biosensors and Bioelectronics**, n.20, p.2512–2516, 2005.

LAZCKA, O.; DEL CAMPOB, Muñoz, F. J. F. X. Pathogen detection: a perspective of traditional methods and biosensors. **Biosensors and Bioelectronics**, n.22, p. 1205-1217, 2007.

LEONI, E.; LEGNANI, P. P. J. Appl. **Microbiol.** v.90, n.1, p. 27–33, 2001.

NAYAK et al. Synergistic combination of antioxidants, silver nanoparticles and chitosan in a nanoparticle based formulation: Characterization and cytotoxic effect on MCF-7 breast cancer cell lines. **Journal of Colloid and Interface Science**, India, v. 470, p. 142-152, 2016.

OLIVEIRA, Anselmo Gomes de et al. Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos. **Quimica Nova**, [s.l.], v. 27, n. 1, p.131-138, dez. 2004.

RAZZAZAN et al. In vivo drug delivery of gemcitabine with PEGylated single-walled carbon nanotubes. **Materials Science and Engineering : C**, Iran, v. 62, p. 614-625, 2016.

SUAVE, J. et al. Microencapsulação: inovação em diferentes áreas. **Revista Saúde e Ambiente**, Health And Environment Journal, [s.l.], v. 7, n. 2, p.12-20, dez. 2006.

WICKI et al. Nanomedicine in cancer therapy: Challenges, opportunities, and clinical applications. **Journal of Controlled Release**, Switzerland, v. 200, p. 138-157, 2015.

ZHOU et al. Herceptin conjugated PLGAPHis-PEG pH sensitive nanoparticles for targeted and controlled drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, USA, v. 487, n. 1-2, p. 81-90, 2015.