

ARTIGO

<https://doi.org/10.22239/2317-269x.01067>

Uso de nanopartículas no rastreamento de células em terapias avançadas: possibilidades e desafios para a aplicação clínica

Use of nanoparticles in cell tracing in advanced therapies: possibilities and challenges for clinical application

RESUMO

Jasmin^{1*}Radovan Borojevic^{II}

Introdução: Para uma regulamentação específica e implementação das novas tecnologias avançadas na clínica médica, é preciso refinar o conhecimento sobre as células utilizadas. Um dos maiores desafios está na dificuldade em determinar os mecanismos de funcionamento das células após a terapia. **Objetivo:** Compreender, usando os métodos de rastreamento celular em pacientes, a distribuição e a função de células usadas em terapias avançadas. **Método:** Este trabalho foi elaborado pelo levantamento de artigos científicos nas bases de dados internacionais e da legislação vigente sobre a utilização clínica das nanopartículas. **Resultados:** Constatamos que a nanotecnologia já é uma ferramenta de grande utilidade, pois diversas nanopartículas magnéticas já são aprovadas para uso clínico; elas podem ser incorporadas por células e visualizadas por imagens de ressonância magnética. O presente texto discute as perspectivas sobre uso de nanomedicamentos para rastreamento celular na clínica médica. **Conclusões:** A utilização das nanopartículas necessita a elaboração e aprovação de leis, guias e normas que orientem a indústria, como outros setores, sobre a caracterização dos nanomateriais e potenciais riscos à saúde humana, animal e ao meio ambiente.

PALAVRAS-CHAVE: Nanopartículas Magnéticas; Rastreamento Celular; Células-tronco; Terapias Avançadas; Nanomedicamentos

ABSTRACT

Introduction: Regulation and introduction of new advanced cellular technologies in clinics requires better knowledge on the used cells. One of the major challenges is the difficulty to accurately determine the mechanisms of cell activities when submitted to advanced therapies. **Objective:** Understand, using the cell tracking methods, the tissue distribution and the molecular response of cells exposed to advanced therapies. **Methods:** This work was done as an integrated review of data collected in international data-bases and of legislations concerning the clinical use of nanoparticles. **Results:** Nanotechnology is a very useful tool for cell tracking in vivo, and several nanoparticles have been already approved for clinical use; they can be incorporated into cells and visualized by magnetic resonance imaging. **Conclusions:** The perspectives on the use of nanomedicines for cellular tracking in medical clinic are promising, requiring elaboration and approval of laws, guides and norms to orient the industrial sectors, regarding the nanomaterials characterization and potential risks to human and animal health, as well as to the environment.

KEYWORDS: Magnetic Nanoparticles; Cell Tracking; Stem Cells; Advanced Therapies; Nanomedicine

^I Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^{II} Faculdade de Medicina de Petrópolis/FASE, Petrópolis, RJ, Brasil

* E-mail: jasmin@biof.ufrj.br

Recebido: 16 out 2017

Aprovado: 04 jan 2018



INTRODUÇÃO

Para a implementação de novas propostas e novos produtos de terapia celular avançada, são necessários ensaios clínicos que demonstrem a ausência de efeitos adversos, e presença de efeitos terapêuticos desejados, inicialmente realizados nas fases I e II. Informações sobre a distribuição das células transplantadas, tanto temporal quanto espacial, são fundamentais para compreender os efeitos dessas novas terapias. Dessa forma, nanopartículas têm sido vastamente exploradas com esse objetivo.

Nos últimos anos, a ciência e a tecnologia em nanoescala têm atraído considerável atenção em diversas áreas de conhecimento, pela expectativa do impacto que os materiais nanoestruturados podem causar na sociedade. Em virtude de suas propriedades físico-químicas singulares, uma infinidade de produtos de uso cotidiano incorporou nanomateriais em sua fabricação, como tecidos resistentes a manchas e que não amassam; microprocessadores; brinquedos resistentes a germes; baterias de longa vida; lâmpadas do tipo LED e plásticos biodegradáveis. Além disso, uma série de produtos com aplicação no corpo humano também já foram desenvolvidos, como cosméticos e filtros solares, e mesmo alguns de aplicação interna, como medicamentos, válvulas cardíacas, marca-passos, cateteres e implantes ortopédicos^{1,2}.

Não existem nanopartículas aprovadas para uso humano especificamente produzidas para o rastreamento celular, porém existem diversas nanopartículas magnéticas aprovadas para o diagnóstico ou a terapia, e que podem ser alternativamente utilizadas no rastreamento celular. No presente texto, analisaremos as perspectivas de uso das nanopartículas no rastreamento de células, em especial sobre as metodologias que podem ser prontamente utilizadas na clínica médica. Além disso, será discutida a necessidade de elaboração e aprovação de uma legislação que oriente a indústria, como outros setores, sobre a caracterização e potenciais riscos dos nanomateriais.

MÉTODO

Para esta revisão foi consultada a literatura científica relacionada principalmente às nanopartículas magnéticas aprovadas clinicamente e ao rastreamento de células em terapias, juntamente com o arcabouço legal pertinente. A pesquisa por artigos científicos foi realizada na base de dados PubMed e *Google Scholar*, e a pesquisa pelo arcabouço legal foi realizada nas publicações disponíveis no portal eletrônico da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), da Câmara dos Deputados e do Governo Federal. Foram utilizadas palavras-chave como: nanopartículas, nanotecnologia, nanomedicamentos, nanopartículas superparamagnética de óxido de ferro, marcação celular, rastreamento celular, rastreamento *in vivo*, tecnologia de imagens moleculares, toxicidade de nanopartículas, terapias avançadas, células-tronco (tanto na língua portuguesa quanto na inglesa).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nanotecnologia

Um primeiro ponto que chama a atenção em nanotecnologia é a definição do termo: não há um consenso, pois se trata de uma área diversa que abrange um grande conjunto de tecnologias. Atualmente, nanomateriais são definidos principalmente pelo tamanho que apresentam. Alguns autores consideram como nanomateriais apenas estruturas de 1 a 100 nm de tamanho em umas das dimensões³; outros aceitam tamanhos maiores, como na definição da *International Standards Organization* (ISO), que determina que a nanotecnologia inclui o controle da matéria e dos processos em nanoescala, tipicamente, mas não exclusivamente, abaixo de 100 nm em uma ou mais dimensões⁴. No Brasil, de acordo com o Projeto de Lei (PL) nº 6.741, de 2013, o termo nanotecnologia se refere à “manipulação de matérias em uma escala que vai de 1 a 100 nm, em pelo menos uma de suas dimensões”. Ainda define o termo nanomaterial, que diz respeito ao “material com uma ou mais dimensões externas, ou com estrutura interna, baseadas na nanoescala, que pode exibir novas características”. Estas definições brasileiras refletem a dificuldade em determinar o termo, já que a nanotecnologia está definida pelo tamanho máximo de 100 nm, e o nanomaterial é aceito dentro da dimensão nanométrica, permitindo, assim, materiais com até 1.000 nm. Uma definição precisa e internacional é importante para regulamentação e comercialização (importação e exportação) dos materiais produzidos a partir de materiais em nanoescala.

Em um artigo chamado “não defina nanomateriais” (tradução livre), o autor argumenta que é necessária uma definição baseada na ciência dos nanomateriais, focando nas novas propriedades e fenômenos observados, e não somente na definição de tamanho⁵. No presente texto iremos tratar o termo nanomateriais como aqueles produzidos na escala nano, ou seja, os compreendidos entre 1 a 1.000 nm.

Nanopartículas

Nanomateriais podem ser divididos em partículas ou fibras que possuem a faixa nanométrica em uma de suas dimensões. Nanopartículas que são definidas com partículas coloidais sólidas (nanosferas) ou tipos vesiculares (nanocápsulas). Novas técnicas de síntese têm permitido a produção de nanopartículas com outros formatos não esféricos, como prisma, hexágono, cubo, entre outros⁶.

Uso de nanopartículas na área médica

A nanomedicina é um termo da medicina contemporânea que surgiu com a junção da medicina e da nanotecnologia. Consiste no uso de nanomateriais em métodos terapêuticos e de diagnóstico. No campo dos nanomedicamentos, tem sido bem-aceito um tamanho que varie de poucos nanômetros até 1.000 nm de diâmetro. Na prática, a gama útil de nanomedicamentos normalmente se enquadra na faixa de 5-250 nm⁷. Alguns fármacos têm



se mostrado menos tóxicos e mais eficientes quando nanoencapsulados do que em seu estado livre^{8,9}. Adicionalmente, tem sido investigado o uso de células-tronco como carreadoras de fármacos nanoencapsulados, principalmente no tratamento de glioma, pois uma propriedade característica das células-tronco, como as células mesenquimais, é sua capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica e seu tropismo para células tumorais^{10,11,12,13}.

Outra possibilidade do uso de nanopartículas em medicina é a sua internalização por células-tronco para rastreamento *in vivo*, que é o principal foco do presente texto. Os mecanismos de funcionamento das novas terapias celulares podem ser, em parte, compreendidos através do rastreamento das células após transplante no paciente. Diversos estudos, inclusive os do nosso grupo, têm mostrado a marcação das células de forma eficiente^{10,15,16}.

Métodos disponíveis de marcação celular

Existem diferentes formas para a marcação celular. Essencialmente, estas se dividem em duas categorias: marcação indireta e direta. A marcação indireta inclui a modificação genética da célula para que esta expresse uma molécula sinal ou que aumente a afinidade por agentes de contraste^{17,18}. Os potenciais riscos derivados da manipulação genética dificultam a aprovação clínica desse procedimento. A marcação direta consiste na incubação das células diretamente com marcadores através de um procedimento simples de incorporação, sem a necessidade de manipulação genética. Existem diferentes técnicas de marcação direta que permitem a incorporação dos marcadores tanto durante o cultivo celular como em células frescas^{19,20,21}. Esta última possibilidade é essencial quando a terapia celular é planejada sem o pré-cultivo celular.

Os marcadores mais utilizados são os radionucleotídeos, nanopartículas fluorescentes e/ou magnéticas. Os radionucleotídeos são substâncias emissoras de radiação que podem ser visualizados por tomografia por emissão de pósitrons (PET) e tomografia por emissão de fóton único (SPECT). Diversos radiofármacos são aprovados para tratamento e diagnóstico *in vivo*, e podem ser utilizados para rastreamento celular. A maior desvantagem da técnica é o tempo de meia-vida dos marcadores, o qual é, em geral, reduzido a algumas horas. Isso traz duas consequências: a primeira é que o tempo de rastreamento das células *in vivo* é curto e a segunda é o breve tempo disponível para transportar os radioisótopos, pois eles são produzidos por equipamentos específicos, como aceleradores de partículas ou reatores nucleares. No Brasil, existem poucas unidades produtoras de radiofármacos, sendo a principal situada em São Paulo, no Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares, que produz 38 diferentes radiofármacos²².

A marcação das células com nanopartículas fluorescentes é interessante em pesquisa pré-clínica, pois é uma técnica com baixo custo e com alta disponibilidade de marcadores fluorescentes⁶. Entretanto, esta técnica não pode ser aplicada clinicamente, pois a luz fluorescente tem baixa capacidade de penetração na superfície do corpo, limitada a milímetros.

Comparativamente às técnicas descritas acima, atualmente, a que apresenta maior disponibilidade e aplicabilidade clínica

é o rastreamento por imagens de ressonância magnética (MRI, do inglês *magnetic resonance imaging*), através da marcação das células com nanopartículas magnéticas. Esta técnica apresenta alta resolução espacial e a vantagem de que dados funcionais do paciente podem ser coletados simultaneamente com os dados de rastreamento. Uma das maiores desvantagens da técnica é a baixa sensibilidade quando comparada aos marcadores fluorescentes ou radioativos. Diversas nanopartículas paramagnéticas de complexos ligantes de íons metálicos, como gadolínio²³, e nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro (SPIONS, do inglês *superparamagnetic iron oxide nanoparticles*)²⁴ estão aprovadas para diagnóstico ou terapia em pacientes. A marcação e o rastreamento de células utilizando-se nanopartículas de gadolínio ou SPIONS têm se mostrado eficazes^{25,26}. Porém, as SPIONS são as nanopartículas mais estudadas para este propósito, entre outros fatores, por sua depuração renal ser mais lenta e por apresentar um sinal mais forte por MRI comparando com os agentes de contraste baseados em gadolínio^{27,28}. Em um estudo recente, foi proposto um método de contraste duplo, usando SPION e gadolínio, o qual permitiria detectar tanto a localização como a morte celular²⁹.

No geral, as técnicas de marcação direta apresentam como maior desvantagem a possibilidade de vazamento dos marcadores do interior celular, levando à perda e/ou difusão do sinal, e gerando resultados pouco confiáveis^{6,18,30}. Por isso, apesar de diversos autores descreverem a possibilidade de rastreamento por longos períodos, de até meses²⁶, nós recomendamos que o rastreamento em pacientes seja realizado por períodos mais curtos, de dias a poucas semanas, para evitar possíveis más interpretações.

A nanopartícula ideal para aplicação clínica não existe, porém esta deveria ser biocompatível, não tóxica, estável em pH fisiológico, permanecer retida apenas nas células marcadas e ser rapidamente eliminada após morte celular. Especificamente para o rastreamento utilizando MRI, uma característica importante é a geração de nanopartículas com alta magnetização, devido à baixa sensibilidade da técnica. Até o momento não existem agentes marcadores com todas essas características e, por isso, os estudos exploram o uso de nanopartículas já disponíveis e aprovadas para uso humano.

Nanopartículas magnéticas aprovadas clinicamente

As SPIONS Feridex/Endorem (120-180 nm de diâmetro) são produzidas para detecção de tumor no fígado, disponibilizadas por AMAG Pharmaceuticals/Guerbet. O Feridex e o Endorem são o mesmo produto, com nomes comerciais diferentes: enquanto o Feridex era produzido em diversos países, como EUA, Japão, Argentina, China, Coreia do Sul, o Endorem era principalmente distribuído na Europa e, no Brasil, porém foram descontinuados e não são mais produzidos. As nanopartículas de Combindex/Sinerem (15-30 nm) são aprovadas para diagnóstico de tumor em linfonodos, disponibilizados por AMAG Pharmaceuticals/Guerbet, e também foram descontinuados. O Resorvist (45-60 nm) possibilita a detecção de tumor de fígado e o Supravist (21 nm) é utilizado para angiografia, ambos comercializados pela Bayer Schering, sendo que o Resorvist foi descontinuado. Excepcionalmente,



o Feraheme (30 nm) não é utilizado para diagnóstico, e sim como suplemento no tratamento de anemias, produzido pela AMAG Pharmaceutical. Todas as nanopartículas mencionadas acima são baseadas em óxido de ferro. Recentemente uma nova formulação do Clariscan (11-20 nm), baseada em gadolínio, para imagens de tumor de microvasculatura, foi aprovada para uso humano pela GE Healthcare. Além disso, com base em gadolínio estão disponíveis também nomes comerciais como Dotarem e Omniscan, indicados para visualizar áreas de ruptura da barreira hematoencefálica ou vascularização anormal no cérebro, medula espinal e tecidos associados (Guerbert e GE Healthcare, respectivamente) e Magnevist (Bayer Schering), sendo esse o primeiro agente de contraste intravenoso a se tornar disponível para uso clínico, e indicado para visualizar vascularização anormal no cérebro e no corpo. Vale ressaltar que os testes realizados com nanomedicamentos são os mesmos realizados com medicamentos convencionais, não havendo testes específicos para medicamentos baseados em nanopartículas.

A descontinuação da produção das nanopartículas tem afetado os estudos sobre rastreamento celular, pois um grande número de trabalhos, inclusive do nosso grupo, foi publicado investigando a marcação de células com materiais que não estão mais disponíveis comercialmente. É importante pontuar que a descontinuação tem ocorrido principalmente por fatores econômicos. Pelo nosso conhecimento, não têm sido registrados casos de toxicidade que culminaram na descontinuação do produto.

Isso mostra uma clara brecha para o desenvolvimento de novas nanopartículas específicas para marcação e rastreamento celular. Atualmente, diversas empresas têm comercializado nanopartículas não aprovadas clinicamente para estudos pré-clínicos, entretanto não está claro se há a intenção de uma futura aprovação clínica.

Através de uma verificação dos produtos medicamentosos registrados na Anvisa, observamos que apenas o Endorem, Dotarem e Omniscan, de todas as nanopartículas citadas acima, estão registrados como medicamentos no Brasil. O Endorem está registrado sob o número 106140022 e teve seu registro vencido em setembro de 2005. O Dotarem está registrado sob o número 149800016 e seu vencimento é para agosto de 2021, enquanto o Omniscan está registrado sob o número 183960003 e venceu em dezembro de 2017³¹. Este pequeno número de nanopartículas magnéticas aprovadas no Brasil limita as opções dos pesquisadores brasileiros, tanto para o possível rastreamento na clínica médica como em estudos pré-clínico, pois não são prontamente importadas.

Uso de nanopartículas aprovadas no rastreamento celular

Para esclarecer como as nanopartículas aprovadas como medicamento podem ser utilizadas no rastreamento celular, vamos utilizar o Feridex como exemplo, o qual é utilizado para detecção de tumor no fígado. Em diagnóstico, o Feridex, preparado em uma solução de 5% de dextrose é administrado como uma infusão por gotejamento durante cerca de 30 min. Uma hora após a injeção intravenosa, as partículas de óxido de ferro são absorvidas pelas células reticuloendoteliais do fígado e do baço,

com uma absorção aproximada de 80% e até 10%, respectivamente. O tecido tumoral não incorpora as partículas e assim permanece, por MRI, com a intensidade de contraste nativo. Uma pequena quantidade de nanopartículas pode ser detectada em outros órgãos, como rins, fígado e cérebro³². De acordo com a bula, o ferro das nanopartículas de Feridex entra no ciclo normal do metabolismo de ferro corporal, evidenciado por aumentos transitórios nos valores de ferro sérico um dia após a administração e aumento nos valores de ferritina no soro 7 dias após a administração. A quantidade de ferro contido numa dose única é de aproximadamente 39 mg para um indivíduo de 70 kg, o que é menos de 1/5 da quantidade de ferro contido em uma bolsa de sangue para transfusão.

Ainda de acordo com a bula do Feridex, em ensaios clínicos, eventos adversos anafiláticos e alérgicos ocorreram em 11 de 2.240 (0,5%) pacientes. Estes eventos incluem dispneia, outros sintomas respiratórios, angioedema, urticária generalizada e hipotensão. Dor aguda nas costas, pernas ou virilha ocorreram em alguns pacientes. Cinquenta e cinco de 2.240 (2,5%) pacientes apresentaram dor intensa o bastante para causar interrupção da infusão. Na maioria dos pacientes, os sintomas se desenvolveram dentro de 1 a 15 minutos.

A dose única recomendada de Feridex é de 0,56 mg de ferro por quilo de peso corporal. Isso significa que um paciente de 70 kg receberá aproximadamente 39 mg de ferro via intravenosa. Para a marcação de células, como para as células-tronco mesenquimais, uma quantidade de 10 pg de ferro incorporado por célula, é considerada suficiente para o rastreamento *in vivo*³³. A quantidade de células injetadas em terapias celulares varia amplamente com o tipo celular, com a doença e com a via de injeção. Supondo uma terapia em que se utilize 1×10^6 células-tronco mesenquimais por kg de peso corporal, em um paciente de 70 kg será administrado 0,7 mg de ferro incorporado às células. Em outras palavras, a quantidade de ferro injetada juntamente com as células é quase 56 vezes menor do que a dose recomendada para o diagnóstico utilizando uma dose única. Este mesmo raciocínio pode ser utilizado para diversas outras nanopartículas magnéticas aprovadas para uso humano e incorporadas, experimentalmente, por células *in vitro*.

Em 2009, foi aprovado um estudo clínico piloto para marcação de células com Endorem para rastreamento por MRI em pacientes saudáveis. Os resultados mostraram que células mononucleares de sangue periférico podem ser marcadas, sem afetar sua viabilidade, capacidade migratória e produção de citocinas (interleucina [IL]-1, IL-6, IL-10, IL-12p70, e fator de necrose tumoral [TNF]) por até 72 horas após marcação. Pacientes saudáveis receberam células marcadas via intramuscular ou intravenosa, foi possível visualizar as células por até 7 dias, e foram principalmente encontradas no fígado e baço. Em conclusão ao estudo, os autores afirmam que a técnica foi eficiente e segura³⁴.

Apesar de a toxicidade dos nanomedicamentos ser testada em seres humanos para aprovação, é importante avaliar os possíveis efeitos tóxicos nas células. A presença das nanopartículas não pode interferir no potencial da terapia celular, por isso, estudos continuam



caracterizando os efeitos das nanopartículas na biologia das células, incluindo viabilidade, influência na migração, na proliferação, na diferenciação e no enxerto. Muitos estudos pré-clínicos mostraram o uso da nanopartículas de forma segura, sem afetar diversos parâmetros celulares^{15,35,36}, outros têm mostrado uma toxicidade relativamente baixa, apontando indução de estresse celular, alterações na expressão de gene, diminuição da taxa de proliferação ou promoção de um ambiente pró-inflamatório^{15,37,38}. Além disso, o efeito tóxico nem sempre é devido à presença das nanopartículas em si, e sim devido à forma como são previamente manipuladas para induzir incorporação pelas células¹⁵.

Para avaliar o efeito das nanopartículas nas células marcadas, mesmo que já tenham sido aprovadas para uso humano, é preciso realizar alguns testes de citotoxicidade *in vitro*. Em células-tronco mesenquimais, por exemplo, sugerimos que sejam avaliadas possíveis alterações no potencial “tronco” destas células, de acordo com a *International Society of Cellular Therapy* as células mesenquimais devem diferenciar *in vitro* em adipócitos, osteócitos e condrócitos, e expressar CD105, CD73 e CD90, e não expressar CD45, CD34, CD14 ou CD11b, CD79a ou CD19 e HLA-DR. Além disso, sugerimos que, no mínimo, sejam realizados testes que caracterizem a taxa de proliferação e morte celular, estes podem ser aplicados a qualquer tipo celular. Alguns testes mais avançados como expressão gênica, estresse celular, entre outros também podem ser utilizados para determinar citotoxicidade em diferentes tipos celulares.

É importante destacar que, mesmo com a possibilidade de algum nível de toxicidade, este problema pode ser contornado, pois somente uma amostra de células pode ser utilizada para o rastreamento. Neste sentido, existe a necessidade de estudos que visem determinar o número mínimo de células a serem marcadas, e que devem levar em conta principalmente o tipo celular e a via de administração.

Os dados discutidos nesta seção refletem claramente a possibilidade de uso de nanopartículas aprovadas para uso humano no rastreamento de células em pacientes. Entretanto, é essencial que haja uma regulamentação dos nanomedicamentos, independentemente do tipo de aplicação.

Marcos regulatórios em nanotecnologia

Apesar do crescente número de produtos contendo nanotecnologia chegando ao mercado, a avaliação dos riscos das nanopartículas para a saúde e para o meio ambiente ainda é um desafio. Nos EUA, a *Food and Drug Administration* (FDA) e, na Europa, a *European Medicines Agency* (EMA) regulam a segurança sanitária dos produtos nanotecnológicos de uso humano e animal. O FDA tem lançado guias para a indústria, estes não estabelecem definições regulatórias, mas destinam-se a orientar e assessorar a indústria e outros sobre segurança, eficácia ou impacto na saúde pública, bem como sobre o controle pós-comercialização³⁹. De forma semelhante, a EMA tem publicado diversos documentos visando padronizar e orientar a indústria e outros. O comitê europeu *Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks* (SCENIHR), que desenvolve pareceres sobre riscos

emergentes ou recentemente identificados em saúde e meio ambiente, identificou que a avaliação biológica de nanopartículas e/ou produtos que incorporem nanopartículas deve ser realizada caso a caso⁴⁰.

No Brasil, os primeiros PL destinados à regulamentação das nanotecnologias datam de 2005 e 2010, o PL nº 5.076/2005 e PL nº 131/2010, respectivamente, e ambos foram arquivados. A partir de 2012, se iniciaram outros esforços, por parte do governo, para impulsionar o desenvolvimento do tema. A Estratégia Nacional de Ciência, Tecnologia e Inovação (ENCTI) 2012-2015 incluiu a nanotecnologia com um dos “programas prioritários para os setores portadores de futuro”. O tema nanotecnologia continua sendo considerado como área estratégica no ENCTI 2016-2019, o qual foi divulgado em 2016, porém ainda em discussão e não aprovado em sua versão final.

O Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovação e Comunicações (MCTIC), através da Portaria nº 245, de 5 abril de 2012, instituiu o Sistema Nacional de Laboratórios em Nanotecnologia (Sis-Nano), que tem como principais objetivos incentivar a pesquisa, o desenvolvimento e a inovação no setor. Ainda em 2012, o MCTIC, juntamente com mais sete Ministérios, entre eles o Ministério da Saúde, através da Portaria nº 510, de 9 de julho, instituiu o Comitê Interministerial de Nanotecnologias, com a finalidade de assessorar diversos Ministérios, bem como aprimorar políticas, diretrizes e ações voltadas para o desenvolvimento das nanotecnologias no país. O Comitê Interministerial de Nanotecnologias aprovou, em 2014, a adesão do Brasil ao projeto europeu NanoReg, que envolve países europeus, e outros como Austrália, Canadá, Coreia do Sul, Estados Unidos e Japão. O NanoReg é um projeto internacional que visa dar suporte técnico e científico a todas as questões de regulação em nanotecnologia.

Desde 2013, estão em discussão na Câmara dos Deputados dois PL, atualmente em regime de tramitação. O PL nº 6.741/2013 que “dispõe sobre a Política Nacional de Nanotecnologia, a pesquisa, a produção, o destino de rejeitos e o uso da nanotecnologia no país, e dá outras providências”⁴¹. Este projeto está apensado ao PL nº 5.133/2013 que “regulamenta a rotulagem de produtos da nanotecnologia e de produtos que fazem uso da nanotecnologia”⁴². Este projeto visa o direito de acesso à informação previsto pelo Código de Defesa do Consumidor.

Um marco legal sobre os produtos contendo nanotecnologia é importante, até pela necessidade de delegar competências às agências e órgãos regulamentadores, como a Anvisa.

Regulamentação de nanotecnologia pela Anvisa

A Anvisa tem um papel fundamental como órgão responsável por fiscalizar a produção e a comercialização de produtos relacionados à saúde, como alimentos, medicamentos e cosméticos. A partir de 2013, o tema nanotecnologia foi inserido na agenda regulatória da agência. Na agenda de 2013-2014, o tema 112 tratou de “nanotecnologia relacionada a produtos e processos sujeitos à vigilância sanitária”, cujo objetivo foi “promover a regulação sanitária referente às inovações tecnológicas decorrentes



da nanotecnologia, tendo em vista a sua importância como área de inovação portadora de futuro, assim como seus potenciais riscos”. Em cumprimento ao tema, foi publicada a Portaria n° 1.358, de 20 agosto de 2014, que instituiu o Comitê Interno de Nanotecnologia da Anvisa. Entre as atribuições do Comitê está a elaboração de normas e guias para a avaliação e controle de produtos que utilizam nanotecnologia. Para o biênio de 2014-2016, a agenda regulatória manteve o tema nanotecnologia como um dos objetos de prioridade. A agenda para os próximos anos está atualmente em discussão⁴³. Porém, apesar dos esforços, pelo nosso conhecimento, ainda não existem normas ou guias que orientem a indústria e outros sobre o desenvolvimento e riscos dos produtos contendo nanotecnologia, como já realizados pelo FDA, nos EUA, e EMA, na comunidade europeia.

Devido a essa falta de regulamentação específica para a nanotecnologia não são exigidos, no momento de registro na Anvisa, testes específicos para garantir a segurança pública dos medicamentos contendo nanomateriais. Outra consequência é a falta de clareza para o consumidor, pois não há obrigatoriedade de informá-lo sobre a presença de nanopartículas nos medicamentos, tanto na bula como no rótulo da embalagem, lembrando que o PL que define a rotulagem está em tramitação desde 2013. Dessa forma, existe a possibilidade de haver diversos produtos registrados não identificados como nanotecnológicos.

Testes específicos na área de nanotecnologia exigem pessoas especializadas, equipamentos sofisticados e avaliação de qualidade que abrangem outros parâmetros além do tamanho da partícula, os quais ainda precisam ser definidos. Além disso, é importante uma

avaliação de risco que deve ser realizada caso a caso, como orientada pelas agências regulatórias norte-americanas e europeias.

CONCLUSÕES

O rastreamento celular permite compreender melhor os mecanismos de funcionamentos das terapias celulares avançadas, facilitando, assim, a aprovação de diversas terapias ainda em fase experimental. Para isso, é possível utilizar nanopartículas magnéticas comercializadas como medicamentos na marcação e rastreamento das células transplantadas. Sugerimos não ser necessária uma regulamentação específica para o uso destes nanomedicamentos no rastreamento celular, pois estes produtos estão aprovados em consonância com as normas vigentes, e a quantidade utilizada para o rastreamento é muito inferior àquela já aprovada para outros usos clínicos. Entretanto, é importante o estabelecimento de uma regulamentação para os medicamentos nanotecnológicos em geral, garantindo o uso de forma segura e com responsabilidade ambiental. Os ensaios específicos devem ser realizados por pessoal e equipamentos especializados, capazes de caracterizar os diversos nanomateriais e verificar a toxicidade. Parâmetros dos nanomateriais, além do tamanho da partícula, ainda precisam ser definidos. Ainda, é importante estabelecer formas de descarte e destruição dos materiais a fim de minimizar os potenciais riscos. Neste sentido, podemos apontar alguns esforços iniciais realizados no âmbito do MCTIC e da Anvisa, porém leis, guias e normas orientando a indústria, como outros setores, precisam ser elaborados e aprovados pelos órgãos responsáveis, e o direito do consumidor de acesso à informação, preservado.

REFERÊNCIAS

1. Liu H, Webster TJ. Nanomedicine for implants: a review of studies and necessary experimental tools. *Biomaterials*. 2007;28(2):354-69. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.08.049>
2. Koo OM, Rubinstein I, Onyukel H. Role of nanotechnology in targeted drug delivery and imaging: a concise review. *Nanomedicine*. 2005;1(3):193-212. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2005.06.004>
3. Zamborini FP, Bao L, Dasari R. Nanoparticles in measurement science. *Anal Chem*. 2012;84(2):541-76. <https://doi.org/10.1021/ac203233q>
4. International Organization for Standardization - ISO. ISO/TC 229: Nanotechnologies. Geneva: International Organization for Standardization; 2005[acesso 26 set 2017]. Disponível em: <https://www.iso.org/committee/381983.html>
5. Maynard AD. Don't define nanomaterials. *Nature*. 2011;475(7354):31. <https://doi.org/10.1038/475031a> PMID:21734686
6. Accomasso L, Gallina C, Turinetto V, Giachino C. Stem Cell tracking with nanoparticles for regenerative medicine purposes: an overview. *Stem Cells Int*. 2016;2016:7920358. <https://doi.org/10.1155/2016/7920358>
7. Garnett MC, Kallinteri P. Nanomedicines and nanotoxicology: some physiological principles. *Occup Med (Lond)*. 2006;56(5):307-11. <https://doi.org/10.1093/occmed/kql052>
8. Mudshinge SR, Deore AB, Patil S, Bhalgat CM. Nanoparticles: emerging carriers for drug delivery. *Saudi Pharm J*. 2011;19(3):129-41. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2011.04.001>
9. Graça D, Louro H, Santos J, Dias K, Almeida AJ, Gonçalves L et al. Toxicity screening of a novel poly(methylmethacrylate)-Eudragit nanocarrier on L929 fibroblasts. *Toxicol Lett*. 2017;276:129-37. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2017.05.017>
10. Kosztowski T, Zaidi HA, Quiñones-Hinojosa A. Applications of neural and mesenchymal stem cells in the treatment of gliomas. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2009;9(5):597-612. <https://doi.org/10.1586/era.09.22>
11. Roger M, Clavreul A, Venier-Julienne MC, Passirani C, Sindji L, Schiller P et al. Mesenchymal stem cells as cellular vehicles for delivery of nanoparticles to brain tumors. *Biomaterials*. 2010 Nov;31(32):8393-401. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.07.048> PMID:20688391



12. Nakamizo A, Marini F, Amano T, Khan A, Studeny M, Gumin J et al. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the treatment of gliomas. *Cancer Res.* 2005;65(8):3307-18. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-1874>
13. Wu X, Hu J, Zhou L, Mao Y, Yang B, Gao L et al. In vivo tracking of superparamagnetic iron oxide nanoparticle-labeled mesenchymal stem cell tropism to malignant gliomas using magnetic resonance imaging. Laboratory investigation. *J Neurosurg.* 2008;108(2):320-9. <https://doi.org/10.3171/JNS/2008/108/2/0320>
14. Jasmin, Jelicks LA, Tanowitz HB, Peters VM, Mendez-Otero R, Carvalho AC et al. Molecular imaging, biodistribution and efficacy of mesenchymal bone marrow cell therapy in a mouse model of Chagas disease. *Microbes Infect.* 2014;16(11):923-35. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2014.08.016>
15. Jasmin, Torres AL, Nunes H, Passipieri J, Jelicks L, Gasparetto E, et al. Optimized labeling of bone marrow mesenchymal cells with superparamagnetic iron oxide nanoparticles and in vivo visualization by magnetic resonance imaging. *J Nanobiotechnology.* 2011;9:4. <https://doi.org/10.1186/1477-3155-9-4>
16. Nold P, Hartmann R, Feliu N, Kantner K, Gamal M, Pelaz B, et al. Optimizing conditions for labeling of mesenchymal stromal cells (MSCs) with gold nanoparticles: a prerequisite for in vivo tracking of MSCs. *J Nanobiotechnology.* 2017;15(1):24. <https://doi.org/10.1186/s12951-017-0258-5>
17. Genove G, DeMarco U, Xu H, Goins WF, Ahrens ET. A new transgene reporter for in vivo magnetic resonance imaging. *Nat Med.* 2005;11(4):450-4. <https://doi.org/10.1038/nm1208>
18. Hong H, Yang Y, Zhang Y, Cai W. Non-invasive cell tracking in cancer and cancer therapy. *Curr Top Med Chem.* 2010;10(12):1237-48. <https://doi.org/10.2174/156802610791384234>
19. Jasmin, Torres AL, Jelicks L, Carvalho AC, Spray DC, Mendez-Otero R. Labeling stem cells with superparamagnetic iron oxide nanoparticles: analysis of the labeling efficacy by microscopy and magnetic resonance imaging. *Methods Mol Biol.* 2012;906:239-52. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-953-2_18
20. Qiu B, Xie D, Walczak P, Li X, Ruiz-Cabello J, Minoshima S et al. Magnetosonoporation: instant magnetic labeling of stem cells. *Magn Reson Med.* 2010;63(6):1437-41. <https://doi.org/10.1002/mrm.22348>
21. Walczak P, Kedziorek DA, Gilad AA, Lin S, Bulte JW. Instant MR labeling of stem cells using magnetoelectroporation. *Magn Reson Med.* 2005;54(4):769-74. <https://doi.org/10.1002/mrm.20701>
22. Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (BR). Comissão Nacional de Energia Nuclear. RMB e a produção de radiofármacos. Brasília, DF: Comissão Nacional de Energia Nuclear; 2015[acesso 26 set 2015]. Disponível em: <http://www.cnen.gov.br/radiofarmacos>
23. Zhou Z, Lu ZR. Gadolinium-based contrast agents for magnetic resonance cancer imaging. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol.* 2013;5(1):1-18. <https://doi.org/10.1002/wnan.1198>
24. Wang YX. Superparamagnetic iron oxide based MRI contrast agents: current status of clinical application. *Quant Imaging Med Surg.* 2011;1(1):35-40. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2223-4292.2011.08.03>
25. Guenoun J, Koning GA, Doeswijk G, Bosman L, Wielopolski PA, Krestin GP et al. Cationic Gd-DTPA liposomes for highly efficient labeling of mesenchymal stem cells and cell tracking with MRI. *Cell Transplant.* 2012;21(1):191-205. <https://doi.org/10.3727/096368911X593118>
26. Guzman R, Uchida N, Bliss TM, He D, Christopherson KK, Stellwagen D et al. Long-term monitoring of transplanted human neural stem cells in developmental and pathological contexts with MRI. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007;104(24):10211-6. <https://doi.org/10.1073/pnas.0608519104>
27. Mahmoudi M, Sant S, Wang B, Laurent S, Sen T. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs): development, surface modification and applications in chemotherapy. *Adv Drug Deliv Rev.* 2011;63(1-2):24-46. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2010.05.006>
28. Shapiro EM, Skrtic S, Sharer K, Hill JM, Dunbar CE, Koretsky AP. MRI detection of single particles for cellular imaging. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004;101(30):10901-6. <https://doi.org/10.1073/pnas.0403918101>
29. Ngen EJ, Wang L, Kato Y, Krishnamachary B, Zhu W, Gandhi N et al. Imaging transplanted stem cells in real time using an MRI dual-contrast method. *Sci Rep.* 2015;5(1):13628. <https://doi.org/10.1038/srep13628>
30. Grimm J, Kircher MF, Weissleder R. [Cell tracking: principles and applications]. *Radiologe.* 2007;47(1):25-33. German. <https://doi.org/10.1007/s00117-006-1449-5>
31. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Consultas / Medicamentos. Brasília, DF: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2017[acesso 26 set 2017]. Disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/medicamentos/>
32. Weissleder R, Stark DD, Engelstad BL, Bacon BR, Compton CC, White DL et al. Superparamagnetic iron oxide: pharmacokinetics and toxicity. *AJR Am J Roentgenol.* 1989;152(1):167-73. <https://doi.org/10.2214/ajr.152.1.167>
33. Arbab AS, Yocum GT, Kalish H, Jordan EK, Anderson SA, Khakoo AY et al. Efficient magnetic cell labeling with protamine sulfate complexed to ferumoxides for cellular MRI. *Blood.* 2004;104(4):1217-23. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-02-0655>
34. Richards JM, Shaw CA, Lang NN, Williams MC, Semple SI, MacGillivray TJ et al. In vivo mononuclear cell tracking using superparamagnetic particles of iron oxide: feasibility and safety in humans. *Circ Cardiovasc Imaging.* 2012;5(4):509-17. <https://doi.org/10.1161/CIRCIMAGING.112.972596>



35. Balakumaran A, Pawelczyk E, Ren J, Sworder B, Chaudhry A, Sabatino M et al. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles labeling of bone marrow stromal (mesenchymal) cells does not affect their “stemness”. *PLoS One*. 2010;5(7):e11462. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011462>
36. Arbab AS, Yocum GT, Rad AM, Khakoo AY, Fellowes V, Read EJ et al. Labeling of cells with ferumoxides-protamine sulfate complexes does not inhibit function or differentiation capacity of hematopoietic or mesenchymal stem cells. *NMR Biomed*. 2005;18(8):553-9. <https://doi.org/10.1002/nbm.991>
37. Doak SH, Manshian B, Jenkins GJ, Singh N. In vitro genotoxicity testing strategy for nanomaterials and the adaptation of current OECD guidelines. *Mutat Res*. 2012;745(1-2):104-11. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2011.09.013>
38. Veranth JM, Kaser EG, Veranth MM, Koch M, Yost GS. Cytokine responses of human lung cells (BEAS-2B) treated with micron-sized and nanoparticles of metal oxides compared to soil dusts. *Part Fibre Toxicol*. 2007;4(1):2. <https://doi.org/10.1186/1743-8977-4-2>
39. U.S. Food and Drug Administration - FDA. FDA Issues three final guidances related to nanotechnology applications in regulated products, including cosmetics and food substances. Silver Spring: U.S. Food and Drug Administration; 2014[acesso 26 set 2017]. Disponível em: <https://www.fda.gov/ScienceResearch/SpecialTopics/Nanotechnology/ucm301093.htm>
40. European Commission. Health & Consumer Protection Directorate-General. Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks. The appropriateness of existing methodologies to assess the potential risks associated with engineered and adventitious products of nanotechnologies. Paris: Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks; 2006[acesso 26 set 2017]. Disponível em: http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_scenihhr/docs/scenihhr_o_003b.pdf
41. Câmara dos Deputados (BR). PL 6741/2013 2013. Dispõe sobre a Política Nacional de Nanotecnologia, a pesquisa, a produção, o destino de rejeitos e o uso da nanotecnologia no país, e dá outras providências. Brasília, DF: Câmara dos Deputados; 2017[acesso 26 set 2017]. Disponível em: <http://www.camara.gov.br/proposicoesWeb/fichadetramitacao?idProposicao=600333>
42. Câmara dos Deputados (BR). PL 5133/2013. Regulamenta a rotulagem de produtos da nanotecnologia e de produtos que fazem uso da nanotecnologia. Brasília, DF: Câmara dos Deputados; 2017[acesso 2017 26 set]. Disponível em: <http://www.camara.gov.br/proposicoesWeb/fichadetramitacao?idProposicao=567257&ord=1>
43. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Agenda regulatória. Brasília, DF: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2017[acesso 2017 26 set]; Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/agenda-regulatoria>

Conflito de Interesse

Os autores informam não haver qualquer potencial conflito de interesse com pares e instituições, políticos ou financeiros deste estudo.



Esta publicação está sob a licença Creative Commons Atribuição 3.0 não Adaptada. Para ver uma cópia desta licença, visite http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/deed.pt_BR.