

Nanotecnologias e saúde pública

Henriqueta Louro, Ana Tavares, Ema Leite, Maria João Silva

Os nanomateriais manufacturados (NMs), isto é, fabricados deliberadamente para fins específicos, apresentam propriedades físico-químicas únicas (e.g., dimensão, área superficial, funcionalização) que lhes conferem características mecânicas, óticas, elétricas e magnéticas muito vantajosas para aplicações industriais e biomédicas¹. Efetivamente, depositam-se grandes expectativas nas tecnologias baseadas nestes NMs, as nanotecnologias, como impulsionadoras do crescimento económico dos países industrializados, devido ao seu potencial para melhorar a qualidade e desempenho de muitos tipos de produtos e de processos (Figura 1). Também na área da medicina, os NMs possuem propriedades promissoras para aplicação em terapêuticas inovadoras, designadamente como plataformas de transporte de fármacos e em métodos de imagiologia². Contudo, o desenvolvimento das nanotecnologias contrasta com a insuficiente avaliação de risco para a saúde humana e para o ambiente, sendo consideradas como um risco emergente para a saúde pública³.

A PRODUÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE NANOMATERIAIS NA EUROPA E EM PORTUGAL

Tem-se assistido a um incremento significativo no desenvolvimento, produção e utilização de NMs a nível mundial, como se constata na base de dados da Woodrow Wilson "Nanotechnology Consumer Products Inventory", onde são identificados 1317 produtos contendo NMs, produzidos por 587 empresas em 30 países (Figura 2).

A maioria da produção e utilização de NMs, especialmente por grandes multinacionais, tem ocorrido nos Estados Unidos da América (49%) sendo a União Europeia (UE) responsável por 30% do mercado produtor⁵. A atividade de patenteamento na área da bionanotecnologia em 2003 era liderada por empresas americanas, com 70% de patenteamento⁶. Cinco anos depois, a atividade de patenteamento teve um aumento de 160% com 7399 patentes registadas. Em Portugal, foram pedidas apenas 14 patentes⁶,

atendendo aos dados de 2010. Relativamente a aplicações da nanotecnologia para a terapêutica e diagnóstico do cancro, em Portugal foram efetuados, pelo menos, cinco pedidos de patente envolvendo essencialmente nanomateriais lipídicos para vetorização de fármacos⁷.

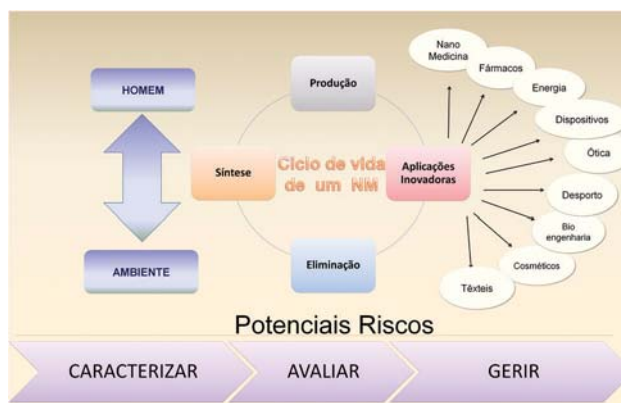


Figura 1 - Exposição humana e ambiental às nanotecnologias no contexto do ciclo de vida dos nanomateriais manufacturados.

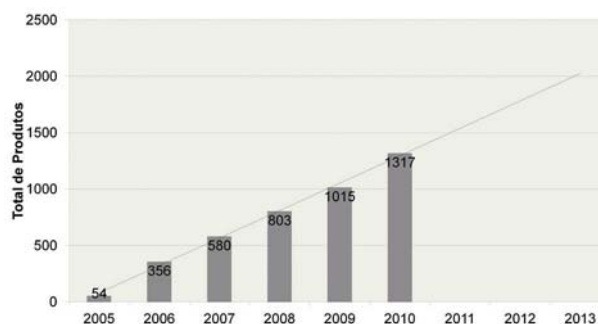


Figura 2 - Evolução do número total de produtos de consumo humano contendo nanomateriais existentes na base de dados, incluindo informação até março de 2011 (Fonte: <http://www.nanotechproject.org/inventories/consumer/>).

Assim, a investigação em Portugal acompanha a tendência internacional da aposta nas nanotecnologias para o diagnóstico e terapia do cancro.

Neste contexto, reconhece-se que o crescente desenvolvimento, produção e utilização de NMs manufacturados tem conduzido a um aumento real da exposição humana, especialmente no contexto ocupacional. No entanto, a informação sobre os níveis de NMs a que a população humana pode estar sujeita ainda é escassa.

EXPOSIÇÃO HUMANA A NANOMATERIAIS MANUFATURADOS

A exposição humana a NMs pode ocorrer durante as várias fases do ciclo de vida dos NMs (Figura 1) desde a sua síntese, produção e inclusão nos produtos (exposição ocupacional), até à utilização desses mesmos produtos (exposição do consumidor). A eliminação dos NMs e consequente acumulação no ambiente poderá constituir ainda uma fonte de exposição humana (exposição ambiental).

A via inalatória constitui a via de exposição humana a NMs mais relevante. A reduzida dimensão dos NMs conduz a uma maior deposição destes nas vias respiratórias (revisto em ⁸), podendo ser responsável por efeitos nocivos ao nível local⁹, e até sistémicos, ao penetrar por esta via noutros órgãos e tecidos. Efetivamente, num estudo em ratos verificou-se que, após a eliminação dos NMs dos pulmões, parte dos NMs podiam ser detetados nos nódulos linfáticos¹⁰. Vários estudos sugerem também a translocação epitelial, intersticial e neuronal dos NMs insolúveis inalados para outros compartimentos do corpo⁸ incluindo o cérebro ¹¹. No caso de NMs de sílica amorfa sintética coberta com polímeros (mas não no caso da maioria dos NMs estudados) verificou-se a acumulação no baço, demonstrando a sua biodisponibilidade sistémica ¹⁰.

Em relação à exposição por via oral, esta pode ocorrer através da ingestão de NMs incorporados em alimentos, suplementos alimentares ou mesmo em embalagens alimentares, bem como os originários de solos ou águas contaminadas. Existem evidências de que os NMs ingeridos poderão ser absorvidos através do intestino de mamíferos ¹² originando efeitos sistémicos. Wang et al. descreveram a acumulação de NMs de dióxido de titânio sobretudo no fígado, baço, rins e pulmões de ratinhos após exposição oral, indicando que estes NMs podem ser transportados para outros tecidos e órgãos após absorção no trato gastrointestinal ¹³.

A via transdérmica poderá também ser importante ¹², quer em termos ocupacionais, quer quando se trata da utilização de pro-

duto de cosmética e higiene pessoal contendo NM na sua composição. No entanto, a capacidade dos NMs penetrarem (ou não) na pele permanece ainda por esclarecer, sendo dependente de múltiplas variáveis inerentes ao NM em si e às condições de exposição da pele ¹⁴. Ainda assim, num documento recente, o *Scientific Committee on Consumer Safety* (SCCS, UE) considera que a absorção dérmica/percutânea dos NMs contidos nos protetores solares é desprezável na pele intacta, sendo improvável que os NMs atinjam as células viáveis da epiderme ¹⁵.

Também a nanomedicina, enquanto aplicação de intervenções médicas à escala molecular para curar doenças ou reparar tecidos danificados⁴, poderá conduzir à exposição dos doentes por administração sistémica e dos trabalhadores que realizam as intervenções. Embora atualmente exista disponível apenas um número limitado de aplicações de NMs em medicina, existem muitas aplicações em fase final de aprovação pelas agências regulatórias ²¹. Assim, à medida que as nanotecnologias se expandem, o risco de exposição dos trabalhadores da área da saúde também aumenta. Porém, existe muito pouca informação sobre estimativas de exposição nos locais de trabalho ou no ambiente.

O esforço para delinear uma estratégia de saúde ocupacional relativamente aos NMs pode ser ilustrado pelo projeto conjunto entre a indústria do mobiliário e a investigação científica conduzida pelo instituto holandês "IVAM Research and consultancy on Sustainability", em que foi coligida informação relativa à utilização de NMs no setor, perspetivas de aplicações tecnológicas, exposição ocupacional e possíveis efeitos na saúde, bem como orientações para uma estratégia de proteção da saúde dos trabalhadores, fundamentada no princípio da precaução. No entanto, não são conhecidas medidas semelhantes para a proteção em contexto hospitalar e é fundamental que sejam direcionados recursos para esse fim.

NANOTECNOLOGIAS- EFEITOS BIOLÓGICOS E IMPACTO NA SAÚDE HUMANA

As propriedades dos materiais, em geral, dependem da sua composição físico-química e do meio ambiente na interface (estado físico, temperatura, pressão). No caso dos NMs, as suas propriedades distintas e atrativas devem-se, fundamentalmente, à reduzida dimensão das partículas e a modificações ao nível da estrutura que conduzem a um aumento da área superficial em relação ao volume, resultando um aumento do número de moléculas/átomos na superfície. Por outro lado, o comportamento dinâmico dos nanomateriais, ou seja, a sua capacidade de formação de agregados ou aglomerados, determina a dimensão real das partículas que vão interagir com os sistemas biológicos ⁴, podendo condicionar também a sua toxicidade. De fato, propriedades dos

NMs tais como hidrofobicidade, funcionalização, carga, estado de dispersão e adsorção de proteínas na sua superfície são determinantes para a sua aptidão em serem absorvidos, metabolizados e eliminados ou acumulados no organismo¹⁶. Estas propriedades podem, no entanto, ser modificadas de um modo dinâmico quando em condições biológicas ou ambientais distintas. Por este motivo, mesmo quando o perfil toxicológico dos constituintes de um NM é conhecido, podem existir casos em que os seus efeitos na saúde e no ambiente sejam distintos relativamente aos dos mesmos constituintes na forma não nanométrica, existindo muitas incertezas sobre os seus potenciais efeitos lesivos. Nesse âmbito, a nanotoxicologia⁴ poderá dar um contributo inestimável no que se refere aos efeitos adversos dos NMs, e assim contribuir para uma base de conhecimento científico que assegure a sua utilização segura e a minimização dos riscos para a saúde pública.

Uma das principais preocupações relativamente aos efeitos adversos dos NMs na saúde humana é o seu potencial efeito carcinogénico, sugerido por alguns estudos *in vitro* e em animais experimentais, mas que até à data não foi inequivocamente comprovada em humanos¹⁷. Foram descritos mecanismos de genotoxicidade¹⁸, consistindo numa interação primária direta ou indireta dos NMs sobre o genoma ou ainda uma ação secundária, via resposta inflamatória e produção de radicais livres de oxigénio^{18, 19}. Contudo, ainda persistem muitas incertezas que justificam uma intensificação dos estudos sobre os potenciais efeitos adversos destes materiais com vista a uma correta avaliação de risco.

Procurando responder a algumas destas necessidades de conhecimento, terminou recentemente a Ação Concertada Europeia "NANOGENOTOX- Safety Evaluation of Manufactured Nanomaterials by Characterisation of their Potential Genotoxic Hazard", na qual o INSA participou. No decurso deste projeto, cujo relatório executivo se encontra disponível em <http://www.nanogenotox.eu/>, verificou-se que a colaboração multidisciplinar é fundamental para garantir uma adequada caracterização físico-química dos NMs e seus efeitos biológicos. De entre os NMs estudados (nanotubos de carbono de parede múltipla, sílica amorfa sintética, dióxido de titânio) observaram-se alguns efeitos positivos relativamente à genotoxicidade em células humanas *in vitro*. No entanto, esses efeitos genotóxicos, por exemplo, o número de quebras nos cromossomas, observaram-se a níveis reduzidos, ainda que superiores aos controlos negativos, e a sua reprodutibilidade era dependente do sistema experimental utilizado (Figura 3). Por outro lado, foram verificadas diferentes respostas na genotoxicidade induzida por um conjunto de NMs da mesma classe em cada linha celular, refletindo a influência de pequenas variações nas propriedades físico-químicas destes, aspeto que deve ser considerado ao efetuarem-se generalizações em contexto de análise de risco²⁰.

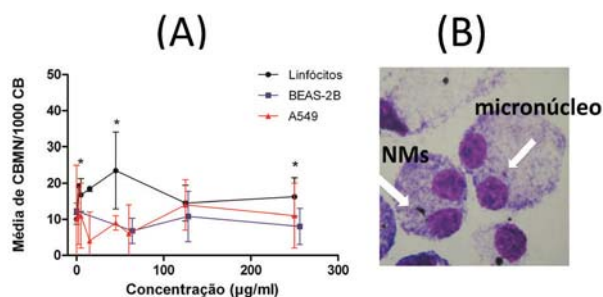


Figura 3 - (A) Resultados obtidos no ensaio de genotoxicidade (teste do micronúcleo) em três tipos de células distintas expostas a um nanotubo de carbono de parede múltipla: linfócitos humanos primários, células do epitélio respiratório (BEAS-2B) e células de adenocarcinoma humano (A549). * Significativamente superior ao controlo, em linfócitos humanos. (B) Microfotografia de células A549 expostas a um nanotubo de carbono de parede múltipla, onde são visíveis duas células binucleadas (devido à inibição da citocinese induzida experimentalmente) exibindo um micronúcleo e alguns aglomerados de NMs. O micronúcleo contém fragmentos de cromossomas ou mesmo cromossomas inteiros e refletem a ação nociva do agente em estudo sobre os cromossomas.

A análise dos resultados globais do projeto demonstrou que é possível utilizar, para os NMs, as metodologias atuais de avaliação de genotoxicidade *in vitro* preconizadas pelas orientações internacionais. No entanto, no caso particular dos NMs, o valor preditivo destes testes para a situação *in vivo* e para a carcinogenicidade humana ainda não está completamente validado, sendo necessário prosseguir a investigação.

CONCLUSÕES

O incremento significativo no desenvolvimento de nanomateriais manufacturados a nível mundial surge como um fator-chave de inovação em termos de aplicações e produtos, especialmente promissor na área da medicina. No entanto, embora vários estudos *in vitro* e *in vivo* indiquem alguns efeitos biológicos adversos dos NMs com potencial impacto na saúde humana, a informação sobre os níveis de NMs a que a população humana se encontra exposta em contexto ocupacional ou ambiental é escassa. Por este motivo, as necessidades "societais" previstas para o futuro dos nanomateriais manufacturados relacionam-se, por um lado, com o desenvolvimento de novas aplicações e, por outro lado, com o desenvolvimento de um paradigma de nanotoxicologia preditiva que permita evitar os seus potenciais efeitos adversos durante todo o seu ciclo de vida²² (Figura 4) garantindo a sua utilização segura. Para isso, preconiza-se a realização de uma avaliação de risco ao longo do ciclo de vida dos NMs, desde a sua síntese e produção até à sua eliminação, com a ponderação dos

riscos colocados a todos os intervenientes em contexto ocupacional, ambiental ou de consumidor/utilizador (Figura 4).

Relativamente à exposição ocupacional, é pois urgente efetuar o registo de trabalhadores expostos a NMs e, logo que possível, fazer uma caracterização da sua exposição e estabelecer estratégias de saúde ocupacional específicas para os NMs.

Por outro lado, importa prosseguir os estudos laboratoriais no sentido de caracterizar a eventual toxicidade desses NMs. Os estudos de genotoxicidade poderão fornecer evidências quanto ao potencial de os NMs contribuírem para o desenvolvimento de doenças crónico-degenerativas e genéticas e, em particular, de cancro. Esta plataforma de evidência permitirá abordar de forma científica este desafio que surge para a Saúde Pública: permitir a inovação minimizando o seu impacto na saúde pública, possibilitando uma abordagem *safe-by-design*, através da produção de NMs com efeitos adversos reduzidos, que facilite o progresso tecnológico e “social” que a aplicação dos novos nanomateriais prenuncia.

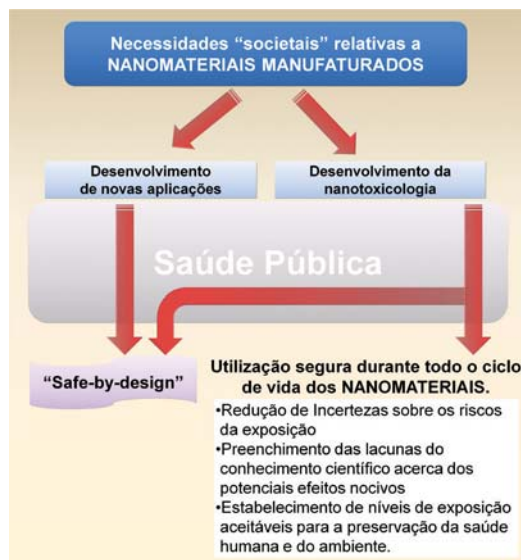


Figura 4 - Enquadramento da nanotoxicologia nas necessidades “societais” atuais para garantia da saúde pública.

AGRADECIMENTOS

Projeto cofinanciado pela EU Grant Agreement 2009 21 01 (NANOGENOTOX), Health Programme e pelo INSA.

REFERÊNCIAS

- Louro, H.; Borges, T., Silva, M.J., Nanomateriais manufacturados – Novos desafios para a saúde pública. *Revista Portuguesa de Saúde Pública* 2013, *in press*.
- Lehner, R.; Wang, X.; Marsch, S.; Hunziker, P., Intelligent nanomaterials for medicine: Carrier platforms and targeting strategies in the context of clinical application. *Nanomedicine* 2013, *9* (6), 742-57.

- SCENIHR- Scientific Committee for Emerging and Newly Identified Risks. *Risk Assessment of Products of Nanotechnology*. 2009.
- Oberdorster, G., Safety assessment for nanotechnology and nanomedicine: concepts of nanotoxicology. *J Intern Med* 2010, *267* (1), 89-105.
- Aitken, R. J.; Chaudhry, M. Q.; Boxall, A. B. A.; Hull, M., Manufacture and use of nanomaterials: current status in the UK and global trends. *Occupational Medicine* 2006, *56*, 6.
- Eugénio, J.; Fatal, V. *Evolução da Nanotecnologia- Abordagem Nacional e Internacional*; Instituto Nacional da Propriedade Industrial: 2010. Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Disponível em <http://www.marcasepatentes.pt>
- Parreira, D. B.; Eugénio, J. *Nanopartículas para aplicação oncológica*; 2011. Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Disponível em <http://www.marcasepatentes.pt>
- Andujar, P.; Lanone, S.; Brochard, P.; Boczkowski, J., Respiratory effects of manufactured nanoparticles. *Rev Mal Respir* 2011, *28* (8), e66-75.
- Ferreira, A. J.; Cemlyn-Jones, J.; Robalo Cordeiro, C., Nanoparticles, nanotechnology and pulmonary nanotoxicology. *Rev Part Pneumol* 2013, *19*(1):28-37.
- Klein, C. L.; Wiench, K.; Wiemann, M.; Ma-Hock, L.; van Ravenzwaay, B.; Landsiedel, R., Hazard identification of inhaled nanomaterials: making use of short-term inhalation studies. *Arch Toxicol* 2012, *86* (7), 1137-51.
- Oberdorster, G.; Sharp, Z.; Atudorei, V.; Elder, A.; Gelein, R.; Kreyling, W.; Cox, C., Translocation of inhaled ultrafine particles to the brain. *Inhal Toxicol* 2004, *16* (6-7), 437-45.
- Becker, H.; Herzberg, F.; Schulte, A.; Kolossa-Gehring, M., The carcinogenic potential of nanomaterials, their release from products and options for regulating them. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2011, *214*, 7.
- Wang, J.; Zhou, G.; Chen, C.; Yu, H.; Wang, T.; Ma, Y.; Jia, G.; Gao, Y.; Li, B.; Sun, J.; Li, Y.; Jiao, F.; Zhao, Y.; Chai, Z., Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration. *Toxicol Lett* 2007, *168* (2), 176-85.
- Labouta, H. I.; el-Khordagui, L. K.; Kraus, T.; Schneider, M., Mechanism and determinants of nanoparticle penetration through human skin. *Nanoscale* 2011, *3* (12), 4989-99; Monteiro-Riviere, N. A.; Wiench, K.; Landsiedel, R.; Schulte, S.; Inman, A. O.; Riviere, J. E., Safety evaluation of sunscreen formulations containing titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in UVB sunburned skin: an in vitro and in vivo study. *Toxicol Sci* 2011, *123* (1), 264-80.
- SCCS- Scientific Committee on Consumer Safety . *OPINION ON Titanium Dioxide (nano form) COLIPA n° S75*; 22 July 2013, 2013.
- Zhu, M.; Nie, G.; Meng, H.; Xia, T.; Nel, A.; Zhao, Y., Physicochemical Properties Determine Nanomaterial Cellular Uptake, Transport, and Fate. *Acc Chem Res* 2012.
- IARC- International Agency For Research on Cancer. *Volume 93: Carbon Black, Titanium Dioxide and Talc*; Lyon, France, 2010.
- Magdolenova, Z.; Collins, A.; Kumar, A.; Dhawan, A.; Stone, V.; Dusinska, M., Mechanisms of genotoxicity. A review of in vitro and in vivo studies with engineered nanoparticles. *Nanotoxicology* 2013. Early online.
- Singh, N.; Manshian, B.; Jenkins, G. J.; Griffiths, S. M.; Williams, P. M.; Maffei, T. G.; Wright, C. J.; Doak, S. H., NanoGenotoxicology: the DNA damaging potential of engineered nanomaterials. *Biomaterials* 2009, *30* (23-24), 3891-914.
- Tavares, A.; Louro, H.; Antunes, S.; Quarre, S.; Simar, S.; De Temmerman, P. J.; Verleysen, E.; Mast, J.; Jensen, K. A.; Norppa, H.; Nessler, F.; Silva, M. J., Genotoxicity evaluation of nanosized titanium dioxide, synthetic amorphous silica and multi-walled carbon nanotubes in human lymphocytes. *Toxicol In Vitro* 2013.
- Murashov, V., Occupational exposure to nanomedical applications. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol* 2009, *1* (2), 203-13.
- Roco, M.; Mirkin, C. A.; Hersam, M. C. *Nanotechnology Research Directions for societal needs in 2020*; 2010.

Henriqueta Louro é bioquímica e trabalha na Unidade de Investigação e Desenvolvimento do Departamento de Genética Humana do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Lisboa, onde desenvolve investigação na área da Toxicologia Genética.

Ana Tavares é bióloga e trabalha em investigação científica no Departamento de Genética Humana do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge.

Ema Leite é médica do trabalho e pneumologista doutorada em saúde ocupacional. É professora na Escola Nacional de Saúde Pública e Diretora do Serviço de Saúde Ocupacional do Hospital de Santa Maria/CHLN.

Maria João Silva é investigadora da Unidade de Investigação e Desenvolvimento do Departamento de Genética Humana do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Lisboa, onde é responsável pelo grupo de investigação em Toxicologia Genética.