

MARCELO LINARDI

# O IPEN E A SAÚDE



**SENAI-SP** editora

**MARCELO LINARDI** é graduado em engenharia química pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), com mestrado em ciências nucleares pelo Instituto Tecnológico de Aeronáutica (ITA). Na Alemanha, fez doutorado em engenharia química pela Universidade de Karlsruhe e pós-doutorado pela Universidade de Darmstadt. Pesquisador no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN-SP), tem experiência na área de química e engenharia química, com ênfase em energias alternativas, atuando principalmente nos temas: célula a combustível, eletroquímica, eletrocatalise, hidrogênio, etanol e combustível nuclear. Orientou teses de doutorado, dissertações de mestrado, trabalhos de iniciação científica, estágios e pós-doutorado na pós-graduação da USP-IPEN. Atuou no PROH2, Programa Brasileiro de Células a Combustível e Hidrogênio do Ministério de Ciência, Tecnologia e Inovação. Em 2019, recebeu o título de Pesquisador Emérito do IPEN.

# O IPEN E A SAÚDE







**Presidente**

Paulo Skaf

**Diretor Regional**

Ricardo Figueiredo Terra

**Diretor Superintendente  
Corporativo**

Igor Barenboim

**Gerência de Assistência à  
Empresa e à Comunidade**

Celso Tabora Kopp

**Gerência de Inovação  
e de Tecnologia**

Oswaldo Lahoz Maia

**Gerência de Educação**

Clecius Vinicius Batista e Silva

**SENAI-SP editora**

**Gerência de Produção  
Editorial e Gráfica**

Caroline Mori Ferreira

**Edição**

Tamires Cianci von Atzingen

**Preparação**

Ligia Alves

**Revisão**

Erika Nogueira

Luisa Tieppo

**Produção Gráfica**

Rafael Zemantauskas

Sirlene Nascimento

Vanessa Lopes dos Santos

**Projeto Gráfico**

Negrilo Produção Editorial

**Diagramação e Adaptação**

Rafael Zemantauskas

**Capa**

Vaiquiria Palma

**Imagem páginas 2 e 3**

Acervo IPEN

© Marcelo Linardi e Coautores, 2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Linardi, Marcelo.

O IPEN e a saúde. Marcelo Linardi. São Paulo: SENAI-SP Editora, 2019.  
280 p.

ISBN 978-85-534-0173-4

Vários autores

1. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN. 2. Medicina nuclear. 3. Medicina radiológica. 3. Radiação. 4. Saúde I. Título.

CDD - 616.0757

Índice para catálogo sistemático

Medicina radiológica

Bibliotecária responsável: Simone Lopes Dias CRB-8 6545

**SENAI-SP EDITORA**

Avenida Paulista, 1.313, 4º andar

01311-923 - São Paulo/SP

Tel. 11 3146-7308

editora@sesisenaisp.org.br

www.senaispeditora.com.br




www.twosides.org.br

Este livro foi composto em Utopia e  
Avenir e impresso pela Nywgraf em  
papel offset 90g/m<sup>2</sup> em outubro de 2019.

615-7:  
L735i  
C. 2  
Esp 2020



## Prefácio

 IPEN, assim como a medicina nuclear, é caracterizado pelas relações multidisciplinares. Sua atuação é extremamente ampla, com impactos nas áreas de materiais, meio ambiente, aplicações de técnicas nucleares, segurança radiológica, reatores nucleares, fontes alternativas de energia e sobretudo na área da saúde. Provavelmente seja na área da saúde, com amplo apelo social, onde o IPEN mostra sua face mais nobre. Nesse contexto, o IPEN abrange o uso de fontes para radiação seladas e não seladas pela medicina nuclear com interfaces na radiologia e na radioterapia.

Aliás, a própria história da medicina nuclear brasileira pode ser contada a partir da história do IPEN. Com seus mais de sessenta anos de sucessos, foram as ações do IPEN que marcaram saltos históricos importantes da evolução da medicina nuclear no país.

A instalação do reator nuclear IEA-R1, em 1958, permitiu a produção do radioisótopo  $^{131}\text{I}$ . Esse desenvolvimento inicial foi decisivo para o nascimento da medicina nuclear como especialidade no Brasil, sendo o  $^{131}\text{I}$  o carro-chefe dessa modalidade médica naquele período, tanto no diagnóstico quanto no tratamento do câncer de tireoide e de outras patologias endócrinas.

Uma nova conquista significativa do Instituto ocorreu em meados da década de 1980, quando o IPEN passou a produzir geradores de  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ . A partir da oferta desse isótopo no mercado brasileiro, que dinamizou e popularizou a medicina nuclear, foi possível a marcação de um grande número de fármacos, construindo assim uma gama de radiofármacos aplicados a uma variedade de órgãos e sistemas do corpo humano.

Mais dois momentos importantes da medicina nuclear estão ligados à ampliação do parque tecnológico do IPEN para a produção de  $^{18}\text{F}$ : em 1998, com a aquisição de um acelerador cíclotron de 18 MeV de potência, e, em 2008, com a instalação de um novo cíclotron de maior potência, 30 MeV, possibilitando considerável aumento de escala. A disponibilização desse radiofármaco foi fundamental para a instalação de inúmeros equipamentos de PET/CT em clínicas de medicina nuclear, exercendo impacto direto sobre o diagnóstico e o tratamento de pacientes oncológicos.

Portanto, é com muita satisfação que apresento *O IPEN e a saúde*. Projeto ambicioso, este livro descreve, além das questões apontadas aqui, tantas outras atividades do IPEN em PD&I relacionadas à saúde, cujo foco principal, claro, foi o desenvolvimento de novos produtos e a utilização da radiação na saúde.

Boa leitura!

JULIANO CERCI  
*Presidente da Sociedade Brasileira  
de Medicina Nuclear (SBMN)*

# Sumário

Introdução 11

Breve histórico 17

*Medicina nuclear* 20

*Radioterapia* 28

Radiofármacos 35

Biotecnologia 75

Aplicações das radiações ionizantes na saúde 105

Metrologia das radiações em saúde 131

Aplicações de laser na saúde 149

Meio ambiente e nanotecnologia a serviço da saúde 171

Reator nuclear a serviço da saúde 203


Desenvolvimento de materiais em saúde 227

Reator Multipropósito Brasileiro 249

Programas de Pós-Graduação 257

Conclusões 267

# Introdução

 IPEN é, atualmente, uma autarquia estadual vinculada à Secretaria de Desenvolvimento Econômico, Ciência e Tecnologia do Estado de São Paulo (SDECT), associada à Universidade de São Paulo (USP) em sua finalidade de ensino e, desde novembro de 1982, gerida técnica, administrativa e financeiramente pela Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN). A CNEN, por sua vez, está vinculada ao Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovação e Comunicação (MCTIC) do governo federal. Localizado no campus da USP, o IPEN ocupa uma área de cerca de 500 mil m<sup>2</sup>, sendo que seus laboratórios e instalações totalizam 102 mil m<sup>2</sup> de área construída. Possui dois Programas de Pós-Graduação (PPG) vigentes. O primeiro Programa de Pós-Graduação do IPEN, vinculado à USP, **Tecnologia Nuclear, Acadêmico** (*Stricto Sensu*), recebeu nota 6 da CAPES, tendo, portanto, desempenho equivalente ao alto padrão internacional, e está credenciado para Mestrado e Doutorado, além de conter um programa próprio de Pós-Doutorado. O programa outorgou, até outubro de 2019, 2.902 títulos, sendo 1.927 de Mestrado e 975 de Doutorado.<sup>1</sup> O segundo Programa de Pós-Graduação é próprio, **Tecnologia das Radiações em Ciências da Saúde**, de caráter Profissional (*Stricto Sensu*), foi aprovado pela CAPES e entrou em operação em agosto de 2019 (ver *Programas de Pós-Graduação*).

As aplicações da radiação na medicina são realizadas em um campo genericamente chamado de radiologia. Esta se divide em (i) radiologia diagnóstica, que utiliza imagens obtidas de raios X, estáticas ou dinâmicas; (ii) radioterapia, que utiliza a radiação ionizante no tratamento de tumores e que, por sua vez, também se subdivide em teleterapia, com a

fonte de radiação distante do tumor, e braquiterapia, cuja fonte, na forma de sementes, fios ou placas, localiza-se próximo ao tumor; (iii) medicina nuclear, que utiliza radionuclídeos como fonte de radiação aberta, nas formas líquida ou gasosa, administrada ao paciente, além de técnicas de física nuclear no diagnóstico ou tratamento de doenças.<sup>2</sup> O IPEN atua em todas as áreas e subáreas citadas, mas se destaca principalmente pela contribuição inequívoca ao campo da medicina nuclear no Brasil.

O IPEN tem a visão da importância de investir nessa área. Nesse contexto, as instituições públicas que respondem pelo desenvolvimento da tecnologia, produção, difusão e distribuição no mercado de radioisótopos estão em sincronia com as necessidades dos demandantes: os hospitais, as clínicas e seus pacientes. Só para exemplificar, o atendimento à população brasileira com a utilização de radioisótopos e radiofármacos aumentou muito de 1995 a 2008. Passou-se de 800 mil procedimentos médicos anuais para 2 milhões. Portanto, a medicina nuclear brasileira ganha importância ano a ano. Atualmente, são cerca de 430 clínicas e hospitais atendidos toda semana em todas as regiões do país. Entre os procedimentos, 2/3 são de clientes particulares e 1/3 é de clientes públicos, aproximadamente.

O mercado de radiofármacos no Brasil está em expansão. Após um trabalho de mais de sessenta anos de esforços em investimentos em PD&I; em infraestrutura; formação de pessoal; proteção radiológica etc., hoje o IPEN é responsável por atender a 95% da demanda nacional de radiofármacos, e essa bem-sucedida trajetória teve início com a vinda do reator IEA-R1 para São Paulo. É importante destacar o caráter nucleador de tecnologias em geral, com forte apelo em inovação tecnológica, que um reator nuclear de pesquisa representa.

A medicina nuclear tem ainda muito a prosperar, pois a demanda é sempre crescente em todo o mundo. Da mesma forma, os desafios dessa especialidade, que envolve altíssima tecnologia, são enormes e instigantes. Os radioisótopos e, conseqüentemente, os radiofármacos são parte fundamental nesse desenvolvimento, tão caro à saúde da população brasileira.

O principal produto em radiofarmácia fabricado no IPEN hoje é o gerador estéril de  $^{99m}\text{Tc}$  (IPEN-TEC).<sup>1</sup> Também chamado de "Kit", o equipamento consiste em uma coluna de vidro com alumina com alta área superficial em seu interior, como coluna adsorvedora, sobre a qual é adsorvido o  $^{99}\text{Mo}$  de fissão. Esse nuclídeo pai (meia-vida: 66 h) decai para o filho  $^{99m}\text{Tc}$  (meia-vida: 6 h). Como a afinidade do filho pela alumina é pequena, este pode ser eluído facilmente utilizando solução fisiológica. Essa solução estéril vem acondicionada em frascos. A coluna é fechada em ambas as extremidades, e duas agulhas de aço inoxidável permitem a passagem do líquido eluente e a saída do  $^{99m}\text{Tc}$  no frasco coletor. O gerador é convenientemente blindado e acondicionado em recipiente plástico.

Na primeira aquisição do gerador IPEN-TEC, é fornecida ao usuário uma blindagem de chumbo para o frasco coletor, proporcionando assim maior segurança pessoal durante a operação de eluição. Acompanham o gerador IPEN-TEC 13 frascos coletores em vácuo e 13 frascos com solução fisiológica, que permitem a aluição em volumes de 6 mL, 13 etiquetas autoadesivas para a identificação dos eluídos e 2 frascos contendo solução bacteriostática, para proteção do sistema nos intervalos das eluições.

O gerador permite obter com eficiência e segurança a solução de pertecnato de sódio ( $\text{Na}^{99m}\text{Tc}_4$ ), que reúne as seguintes características: estéril e apirógena; pH entre 5-7; concentração de Al(III) menor ou igual que 10 ppm; concentração em  $^{99}\text{Mo}$  menor ou igual a 0,1%. O  $^{99m}\text{Tc}$  decai por transição isométrica emitindo fótons de energia 140 keV (87,9%), os quais são adequados para a detecção e o estudo de imagens. O gerador IPEN-TEC é fornecido ao mercado com as seguintes atividades de  $^{99m}\text{Tc}$ : 9,25 GBq (250 mCi), 18,5 GBq (500 mCi), 27,75 GBq (750 mCi), 37,0 GBq (1.000 mCi), 46,25 GBq (1.250 mCi), 55,50 GBq (1.500 mCi) e 74 GBq (2.000 mCi).

O IPEN produz hoje radioisótopos e radiofármacos, frutos de pesquisa científica e tecnológica, para procedimentos de diagnóstico e terapia em medicina nuclear. Essa produção corresponde a aproximadamente 2 milhões de procedimentos diversos por ano, gerando, em média, US\$ 30 milhões/ano em arrecadação para o governo federal. Salienta-se

também que há um esforço contínuo e permanente do Instituto no sentido de desenvolver novos produtos, com o objetivo de reduzir a dependência nacional de radioisótopos importados.

Outra grande inovação pioneira do IPEN foi o desenvolvimento e a produção de fios de  $^{192}\text{Ir}$  para a braquiterapia. Atualmente, 100% desse material utilizado no Brasil é produzido pela Instituição, que o disponibiliza à classe médica desde 1997.

Os principais equipamentos de porte para a produção e a pesquisa de radionuclídeos e radiofármacos disponíveis no IPEN são: 1 reator nuclear de pesquisas (IEA-R1), de 4,5 MW térmicos de potência; 2 cíclotrons, de 18 MeV e 30 MeV; 16 celas controladas de processamento de radiofármacos em operação e 14 celas novas em instalação (*hot cells*); 1 cela de produção de  $^{192}\text{Ir}$ , para braquiterapia de alta taxa de dose. Esse parque de equipamentos torna o IPEN único no Brasil para sua finalidade.

Após décadas de investimento público em recursos humanos e laboratórios, seguindo o caminho virtuoso da inovação tecnológica,<sup>3</sup> chega-se à oferta pelo IPEN de um rol de radiofármacos único no país. Trata-se do resultado de um grande esforço de P&D e de competências nacionais, motivo de muito orgulho. No capítulo *Radiofármacos* são mostrados todos os radiofármacos produzidos em 2019 no IPEN.<sup>1</sup> Além desses produtos, o Instituto fornece fios de  $^{192}\text{Ir}$  e sementes de  $^{125}\text{I}$ , ambos utilizados em tratamentos oncológicos, por meio de procedimentos de braquiterapia.

O IPEN é hoje um grande Instituto de Pesquisas de caráter multidisciplinar. Essa particularidade, associada a equipamentos de porte únicos no país, contribui, significativamente, para o surgimento de linhas de pesquisa inéditas e inovadoras. Dentre elas, inúmeras têm aplicação direta ou indireta na área da saúde e certamente vieram como consequência do sucesso do Instituto na área de radiofarmácia. A maioria das linhas de pesquisa faz uso das radiações ionizantes ou não em seus desenvolvimentos. Nos capítulos seguintes, são apresentadas essas linhas de pesquisa, que põem em evidência o portfólio do IPEN nessa área tão importante ao país.

#### Referências bibliográficas deste capítulo

1. Dados obtidos no Portal do IPEN em julho de 2019: [www.ipen.br](http://www.ipen.br) (seção de ENSINO).
2. OKUNO, E. *Radiação, efeitos, riscos e benefícios*. São Paulo: Oficina de Textos, 2018.
3. LINARDI, M. *O IPEN e a inovação tecnológica: passado, presente e futuro*. São Paulo: SENAI, 2016.



**D**entre as várias áreas de atuação científica e tecnológica do IPEN, a da saúde recebe especial destaque, por ser especificamente relacionada ao câncer, uma das principais causas de morte em todo o mundo. Esse fato baseia-se no desenvolvimento, desde a criação do Instituto, em 1956, das competências nacionais em medicina nuclear e radioterapia. As aplicações da **medicina nuclear** dividem-se em diagnóstico e terapia (ver capítulo *Radiofármacos*). Já as técnicas em **radioterapia** são vitais em terapias de câncer (ver capítulo *Aplicações das radiações ionizantes na saúde*). Entre os possíveis tratamentos do câncer, têm-se: cirurgia, radioterapia, quimioterapia, hormonioterapia, imunoterapia e terapia-alvo com agentes químicos ou radioquímicos, entre outros.

A radioterapia é definida como o uso de radiação ionizante para tratamento de doenças e se divide em duas modalidades: teleterapia e braquiterapia. Na teleterapia, o câncer é tratado por um feixe de radiação proveniente de um acelerador linear de elétrons, ou seja, a fonte de radiação é externa ao paciente. Já na braquiterapia, a fonte de radiação é colocada próxima ou em contato com a região a ser tratada. A dose é liberada continuamente, durante um curto período (implantes temporários) ou durante todo o decaimento da fonte (implantes permanentes).

A seguir, apresentamos um breve histórico destas duas atividades no Brasil: a medicina nuclear e a radioterapia.

## MEDICINA NUCLEAR

Pode-se considerar o nascimento da medicina nuclear no Brasil com a criação da primeira unidade de radioisótopos na América do Sul, designada Laboratório de Isótopos da Faculdade de Medicina da USP, a Universidade de São Paulo, em 1949. Os radioisótopos usados eram importados dos Estados Unidos da América (EUA). Naquele ano, apenas EUA e Inglaterra atuavam nessa área.<sup>1</sup> Os pioneiros no Brasil foram o casal Dra. Verônica de Eston e Dr. Tede de Eston, com o apoio da estadunidense Fundação Rockefeller. Outros nomes importantes no nascedouro da medicina nuclear – na época apenas se falava em “emprego de isótopos radioativos na medicina” – foram: Dr. Rômulo Ribeiro Pieroni, Dr. José Carlos Barbério, Dr. Camilo Segreto, Dr. José Augusto Villela Pedras e a química contratada Dra. Constância Pagano Gonçalves da Silva.

Em uma parceria entre a Universidade de São Paulo (USP) e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), conjuntamente com a doação ao Brasil de um Reator Nuclear de Pesquisas, pelos Estados Unidos, fruto do *Programa Átomos para a Paz*, proposto na Organização das Nações Unidas (ONU), em 1953, pelo presidente estadunidense Dwight Douglas Eisenhower, foi criado, em agosto de 1956, o IEA, Instituto de Energia Atômica, da Faculdade de Física da USP. Em 1986, o IEA teve sua designação modificada para Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, o atual IPEN. O reator nuclear IEA R1 foi inaugurado em 1958 (Figura 1).<sup>3</sup> Após apenas um ano de operação, em 1959, teve início a produção do radioisótopo <sup>131</sup>I, na forma de iodeto de sódio, pelo Instituto, sob o comando da Dra. Constância Pagano, por meio da irradiação com nêutrons do telúrio no reator IEA-R1. A primeira remessa produzida foi enviada à Clínica de Medicina Nuclear do Dr. Villela Pedras, no Rio de Janeiro, para uso médico. Também em 1959 foi inaugurado o pioneiro Centro de Medicina Nuclear, anexo à Faculdade de Medicina da USP, sob o comando do casal De Eston.<sup>1</sup>

Em 1961, ocorreram duas ações importantes para a medicina nuclear no Brasil. A primeira foi a criação da Sociedade Brasileira de



Biologia e Medicina Nuclear (SBBMN), sob a presidência do Dr. Tede de Eston.<sup>1</sup> A segunda ação foi um estágio de 5 meses realizado pela Dra. Constância Pagano no *Centre d'Études Nucléaires de Saclay*, França, na área de produção de radioisótopos, e a montagem da instalação para essa produção, com o apoio do Dr. Marcello Damy de Souza Santos, então Superintendente (e fundador) do IEA. Essa segunda ação permitiu o aumento de escala na produção de <sup>131</sup>I e de outros vários radionuclídeos pelo então IEA. Já em 1963, iniciou-se a marcação de moléculas

1 Vista do prédio que abriga o Reator Nuclear de Pesquisa IEA-R1, no fim dos anos 1950. Crédito: Acervo IPEN.

2 Profa. Constância Pagano Gonçalves da Silva, pioneira nas pesquisas para produção de radiofármacos no Brasil. Responsável por estruturar e coordenar a área de Radiofarmácia do IPEN por cerca de 40 anos. Crédito: à esquerda: acervo pessoal; à direita: Marcello Vitorino/Fullpress.

com  $^{131}\text{I}$  para o diagnóstico de diversas funções do organismo humano. O desenvolvimento inicial foi decisivo nos primórdios da medicina nuclear no Brasil (Figura 2).

Todo esse desenvolvimento na área médica não seria possível sem o domínio nacional das tecnologias do Ciclo do Combustível Nuclear e de Reatores Nucleares de Pesquisa. O IPEN atua na área do ciclo do combustível nuclear praticamente desde sua fundação, em 1956. Os primeiros estudos em escala de laboratório datam de 1959, efetuados no então IEA. Nessa época, o IEA desenvolveu várias atividades ligadas ao ciclo do combustível a partir do *yellow cake*, chegando até os dias de hoje, no IPEN. Como resultado, foram desenvolvidas as tecnologias de fabricação do combustível tipo placa à base de dispersão e fabricação do combustível à base de pastilhas de  $\text{UO}_2$ . Em 1960, foi projetada e instalada uma unidade-piloto para purificação de concentrados de urânio, treinando e formando profissionais especializados na química de urânio. A partir de 1960, iniciou-se o desenvolvimento do combustível à base de dispersão, com aplicação em reatores de pesquisas tipo piscina.

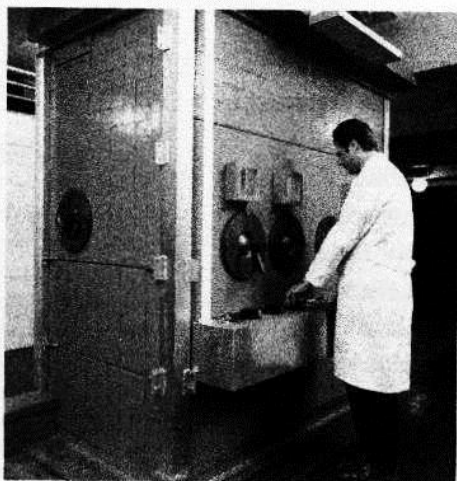


Vinte anos depois, na década de 1980, o IPEN dominou essa tecnologia de fabricação e iniciou a produção do combustível para seu reator de pesquisas IEA-R1, de (na época) potência 2 MW térmicos, o que exigiu um significativo avanço tecnológico nas técnicas de fabricação.<sup>2</sup>

De 1960 a 1965, iniciaram-se as produções de  $^{24}\text{Na}$ ,  $^{42}\text{K}$ ,  $^{51}\text{Cr}$ ,  $^{198}\text{Au}$ ,  $^{35}\text{S}$  e  $^{32}\text{P}$ . Outros nomes importantes do período nesse desenvolvimento foram: Dr. Antônio de Barros Ulhoa Cintra, Dr. Rômulo Ribeiro Pieroni, Dr. Oswaldo Gnecco, Dr. Júlio Kieffer e Dr. José Carlos Barbério.<sup>1</sup> Em 1963, já com o domínio das preparações e os devidos controles de qualidade, radiofármacos produzidos no IEA foram levados ao Hospital das Clínicas (HC) para ensaios. Fizeram parte desse lote pioneiro os seguintes radiofármacos: soroalbumina humana, rosa de bengala e hippuran, marcados com  $^{131}\text{I}$  ou  $^{51}\text{Cr}$ . Nascia assim, oficialmente, a especialidade Radiofarmácia dentro do HC em São Paulo. A partir daí, houve um rápido crescimento da medicina nuclear no Brasil, tecnologia empregada por médicos e pesquisadores em clínicas particulares e pequenos laboratórios em Faculdades, além, é claro, do antigo IEA, atual IPEN.

Os primeiros títulos oficiais de especialista em medicina nuclear do Brasil foram outorgados pela Associação Médica Brasileira e Colégio Brasileiro de Radiologia em 1968.<sup>1</sup> Os aprovados nessa turma pioneira foram Maria Aparecida Barcelos Gomes, Jayme José Gouveia, Duílio Marsiglia e Lenine Fenelon Costa, em 12 de janeiro de 1968. Entretanto, o primeiro médico outorgado foi o Dr. Clóvis Bornemann, em 1972.

Nos anos 1970, os serviços de medicina nuclear começaram a substituir parte do  $^{131}\text{I}$  por  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , radioisótopo artificial, produto do decaimento do  $^{99}\text{Mo}$ , num sistema bastante prático chamado de gerador (Figura 3). Em pouco tempo a novidade chegou ao Brasil. O  $^{99}\text{Mo}$  podia ser produzido por diversas reações nucleares em reatores nucleares e aceleradores. O Brasil não possuía ainda as instalações para uma produção estratégica de radiofármacos. Em 1976, foi inaugurado um complexo de prédios para a Radiofarmácia do Instituto (Figura 4). Em 1979, o IPEN já preparava conjuntos de reativos liofilizados para serem marcados com  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , *in loco*, obtido de geradores importados.<sup>3</sup>



3 Célula para produção de  $^{131}\text{I}$ , no início dos anos 1970. Crédito: Acervo IPEN.

Em 1988, iniciou-se a distribuição rotineira de  $^{67}\text{Ga}$  destinado à localização de processos inflamatórios e tumores de tecido mole. Dois anos depois teve início a produção de  $^{123}\text{I}$ , no IPEN.<sup>3</sup>

Na década de 1980, devido à crise financeira nacional e à inflação descontrolada, a medicina nuclear teve uma severa desaceleração. Por conta desse cenário e das constantes desvalorizações da moeda, os geradores de  $^{99}\text{Mo}$ - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , importados, atingiam preços exorbitantes para a prática. Em meados daquela década, já eram produzidos no IPEN, semanalmente, 10 pequenos geradores de  $^{99}\text{Mo}$ - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ . O radioisótopo  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , biocompatível, possui meia-vida de 6 h, emite um fóton de

140 KeV de energia e pode ser usado para marcar um grande número de fármacos, construindo, assim, um radiofármaco. Explica-se por esse fato sua larga utilização em medicina nuclear, podendo ser aplicado a uma variedade de órgãos e sistemas do corpo humano.

Entretanto, ainda nessa época, era necessário o devido aumento de escala na produção dos geradores de  $^{99}\text{Mo}$ - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ . Após esforços conjuntos de Wirton Miguel Gentil Palermo, da SBBMN, da Secretaria de Ciência e Tecnologia do Estado de São Paulo, do Dr. Claudio Rodrigues e dos cientistas e funcionários da Radiofarmácia, um projeto nessa direção foi aprovado e implantado. Nesse esforço, destacam-se as competências de Constância Pagano Gonçalves da Silva, Marycel Figols de Barboza e Jair Menghatti. O  $^{99}\text{Mo}$  passou a ser importado do Canadá para a fabricação no IPEN dos geradores  $^{99}\text{Mo}$ - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ . Portanto, no fim dos anos 1980, estabeleceu-se no IPEN a distribuição desses geradores com eluição automática em padrões internacionais. Paralelamente, foram desenvolvidos conjuntos de reativos liofilizados para o diagnóstico de diversas doenças<sup>3</sup>.

Já na década de 1990, cresceu bastante a demanda por radiofármacos, principalmente devido à introdução do MIBI (metoxisobutil isonitrilo), indicador de perfusão cardíaca, com potencial de marcação



4 Inauguração do complexo de prédios da Radiofarmácia, em 1976. Da esquerda para direita: Constância Pagano Gonçalves da Silva, coordenadora da área, Miguel Colassuno, prefeito de São Paulo, Laudo Natel, governador do Estado de São Paulo, Hernani Amorim, que seria superintendente do IPEN de 1979 a 1982, Rômulo Ribeiro Pieroni, superintendente do IPEN de 1963 a 1979, e Hervásio Guimarães de Carvalho, presidente da CNEN de 1969 a 1982. Crédito: Acervo IPEN.

com  $^{99m}\text{Tc}$ , substituindo o  $^{201}\text{Tl}$ , até então usado, que envolvia logística complexa. A produção do radiofármaco no IPEN passou a ter alcance nacional. Nessa época, a CNEN começou a conceder autorização para compra e gerenciamento de substâncias radioativas apenas aos médicos com especialização em medicina nuclear, garantindo a qualidade dessa especialidade no Brasil.

A produção de  $^{18}\text{F}$  teve início no IPEN em 1998, com a aquisição de um acelerador cíclotron de 18 MeV de potência. Dez anos mais tarde, seria instalado um novo equipamento de maior potência, 30 MeV, possibilitando considerável aumento de escala. A síntese do radiofármaco FDG- $^{18}\text{F}$  (sigla *FDG*: fluordeoxiglicose, molécula bastante demandada por tumores malignos) ocorreu no fim da década de 1970, sendo o radioisótopo  $^{18}\text{F}$  uma fonte importante de pósitron de meia-vida de 110 min, com uma energia de 634 keV, que caminha alguns milímetros no tecido humano até encontrar um elétron, quando se aniquila, formando dois fótons de 511 keV de energia cada um, usados na construção de imagens. Os equipamentos de tomografia por emissão de pósitron (sigla *PET* em inglês) surgiram no mercado no fim dos anos 1980. No Brasil, o primeiro equipamento para tomografia computadorizada por emissão de fóton único (sigla *SPECT* em inglês) foi adquirido em 1998 pelo InCor, em São Paulo, com o fornecimento de  $^{18}\text{F}$  pelo IPEN, via cíclotron. No início dos anos 2000, o InCor, o Hospital Sírio-Libanês, o Hospital do Coração e o Hospital Albert Einstein já contavam com seus SPECTs instalados. A Secretaria de Ciência e Tecnologia do Estado de São Paulo investiu nos laboratórios do IPEN de modo a garantir a produção dedicada de FDG- $^{18}\text{F}$  no Brasil naqueles tempos iniciais, para uso em oncologia, neurologia e cardiologia. Em pouco tempo veio a determinação da CNEN de abrir o monopólio de radiofármacos de meia-vida inferior a 2 h, caso do  $^{18}\text{F}$ , fato que gerou a instalação de cíclotrons em outros estados brasileiros e difundiu a técnica, praticamente, em todo o território nacional.

Em 1999, as atividades do IPEN na produção e distribuição de radiofármacos tiveram a certificação ISO-9002, e, nos anos de 2002 e 2009, a

certificação ISO-9001-2000 para o escopo P&D, produção, controle de qualidade e comercialização. Nessa época também teve início a produção de EDTMP-<sup>153</sup>Sm como paliativo das dores provenientes de metástases ósseas.

De maneira geral, nos anos 2000, foram elaboradas as normas da CNEN destinadas diretamente ao exercício da medicina nuclear e ao uso médico dos radioisótopos. Nesse mesmo período, intensificaram-se as ações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), com exigências, por vezes, muito severas. A CNEN também regulou a supervisão de proteção radiológica exclusivamente para médicos e físicos, desde que aprovados em curso de qualificação dessa instituição.

No ano de 2006, iniciou-se a distribuição de Octreotídeo-DTPA-<sup>111</sup>In, com <sup>111</sup>In importado, para o diagnóstico de tumores neuroendócrinos. Nesse mesmo ano, o IPEN produziu a hidroxiapatita marcada com <sup>90</sup>Y, indicada para radiossinoviotese. A importância desse tratamento para hemofílicos é grande. Em 2007, iniciou-se a produção e distribuição do Octreotídeo-DOTA-<sup>177</sup>Lu, com <sup>177</sup>Lu importado da Holanda, para terapia de tumores raros de origem neuroendócrina.<sup>3</sup>

Outros radioisótopos importantes para a classe médica são produzidos em reatores nucleares tais como <sup>32</sup>P, <sup>89</sup>Sr, <sup>153</sup>Sm, <sup>131</sup>I, <sup>166</sup>Ho, <sup>186</sup>Re, <sup>165</sup>Dy etc. É notório que houve uma grande evolução na produção de radioisótopos no IPEN, mas a instituição não parou a pesquisa para se inserir somente na produção, ainda que esta aumente ano após ano.

Em 2009, houve uma crise mundial no fornecimento de <sup>99</sup>Mo no mercado. As causas da crise foram: (i) o fechamento, em 2007, do reator nuclear NRU do Canadá, produtor e exportador do produto; (ii) em 2008, os dois reatores da empresa MDS Nordion, também canadense, com capacidade para atender a 100% da demanda mundial de <sup>99</sup>Mo, não obtiveram licença de operação. Houve graves consequências no Brasil. Esse desabastecimento abrupto do mercado de radiofármacos elevou os preços em até 170% em dólar e perdurou até 2011, aproximadamente. A crise gerou um resultado direto e estratégico para o futuro da medicina nuclear no Brasil: a criação do Projeto Institucional da

CNEN “Reator Multipropósito Brasileiro”, conhecido pela sigla RMB, em 2012.

A operação do RMB consistiria em uma solução definitiva para a produção de  $^{99}\text{Mo}$ , que atualmente é 100% importado de diversos países, com complicada logística, variação de preços e suscetibilidade a crises ou mesmo interrupção no fornecimento desse insumo estratégico para a medicina nuclear. Estima-se que 80% dos exames no país dependam hoje do gerador de  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ .

O RMB será construído no município de Iperó, em São Paulo, e já possui licença prévia do IBAMA e licença de local da Diretoria de Radioproteção e Segurança Nuclear da CNEN. Em 2019, está em andamento a contratação do projeto detalhado de engenharia do empreendimento. Metade do investimento total do RMB será custeada pelo Ministério da Saúde (MS). A outra metade deve vir do Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (MCTIC). O RMB será utilizado também para testes de irradiação de combustíveis nucleares e de materiais, assim como para as respectivas análises pós-irradiação e para pesquisas científicas com feixes de nêutrons em várias áreas do conhecimento.

É importante salientar que o IPEN e a sociedade ainda podem enfrentar dificuldades de atendimento médico ocasionadas pela interrupção do fornecimento de  $^{99}\text{Mo}$  importado enquanto o Brasil não for autossuficiente nesse insumo vital para a medicina nuclear no país. Somente a construção de um novo reator nuclear de pesquisa e produção de radioisótopo (RMB) garantirá ao Brasil a autonomia na produção de  $^{99}\text{Mo}$ .

#### RADIOTERAPIA

No fim da década de 1980, teve início no mundo a utilização de fontes radioativas internas ao corpo, na modalidade braquiterapia. Nessa fase inicial, a alternativa dos hospitais brasileiros era importar as fontes individualmente a um custo elevado. Por esse motivo, o físico médico

José Carlos Cruz e o médico Vinio Cintra Oliveira, do Hospital Israelita Albert Einstein e do Hospital A.C. Camargo, contataram o IPEN para o desenvolvimento e a produção de fios de  $^{192}\text{Ir}$  para braquiterapia de baixa taxa de dose. Respondendo ao interesse da classe médica, o Instituto solicitou à pesquisadora Maria Elisa Rostelato a criação de um grupo de pesquisas para começar o desenvolvimento de fontes radioativas para uso em braquiterapia.

Nessa época, somente uma empresa do mundo, a Amershan, fabricava esses fios e detinha o monopólio do mercado. Nesse cenário, o IPEN precisava definir o tipo de fio a ser irradiado, o tempo de irradiação, a forma de manipulação pré e pós-irradiação em seu reator IEA-R1 e, posteriormente, definir como o produto seria entregue nos hospitais. Inicialmente foram adquiridos fios inativos de várias empresas e analisou-se a composição de sua liga metálica para garantir a homogeneidade da atividade linear durante o uso nos pacientes. Apesar de conter fios homogêneos, quando se irradiou o material, descobriu-se que, pela autoabsorção do irídio, a forma de irradiação no reator não podia ser estática. Então, o grupo precisou desenvolver um sistema de irradiação rotativo que opera até hoje no reator IEA-R1, sistema este que é utilizado para várias outras irradiações, além dos fios de irídio.

Outro problema a solucionar era a manipulação dos fios irradiados, já que após a irradiação o fio deve passar por um controle de qualidade antes de ser enviado para os hospitais. Esse controle de qualidade consiste em medir a atividade linear do fio e garantir que a variação dessa atividade não seja maior que 10%. Para tanto, era necessário projetar e construir uma *hot-cell* de chumbo com pelo menos 5 cm de parede. Mediante financiamento da Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA), a *hot-cell* foi construída em 1996, e a partir de então puderam ser produzidos os primeiros fios, posteriormente entregues aos hospitais A.C. Camargo, Sírio-Libanês, Albert Einstein e Erasto Gaertner (este de Curitiba).

Com o sucesso dos primeiros usos, os fios de  $^{192}\text{Ir}$  de baixa taxa de dose tornaram-se um produto comercial no catálogo do IPEN desde 1997.

Em 1998, a sociedade médica demandou ao IPEN que produzisse sementes de  $^{125}\text{I}$  no país. O grupo de pesquisas do laboratório de produção de fontes para braquiterapia foi incumbido de desenvolver o novo produto. As vantagens desse material são inúmeras. A braquiterapia com sementes de  $^{125}\text{I}$  pode ser utilizada como implante permanente (próstata) ou temporário (olhos e cérebro). A fonte radioativa, em forma de semente, é constituída por (a) um núcleo que contém o  $^{125}\text{I}$  e um marcador radiológico, podendo ser ouro, prata, cerâmica, resina etc.; ou (b) uma cápsula de material biocompatível que envolve o núcleo, mais comumente de titânio ou aço inoxidável.

As sementes podem ser utilizadas para tratamento de retinoblastoma (câncer na retina), gliomas (tumor no sistema nervoso central) e câncer na próstata. No ano de 2014, 25 mil sementes de  $^{125}\text{I}$  importadas pelo Brasil foram utilizadas para tratar câncer de próstata, 360 para retinoblastoma e apenas 3 para câncer cerebral. Existem estudos voltados ao uso dessas sementes também no tratamento de câncer de mama, pulmão, cabeça e pescoço e no pâncreas.<sup>4-10</sup>

O tratamento do câncer na próstata por meio da braquiterapia tem finalidade curativa. De acordo com os resultados da literatura mundial, 95% dos pacientes tratados com essas sementes encontram-se livres da doença após doze anos do tratamento. Além disso, como esse procedimento poupa os tecidos saudáveis, a ocorrência de efeitos colaterais é menor em relação a outras técnicas. Para o câncer de próstata, apenas 15% dos pacientes apresentam alteração da atividade sexual e menos de 1% apresenta incontinência urinária. Na cirurgia, esses números sobem para 45% para impotência sexual e 8% para incontinência urinária. Os implantes com sementes são procedimentos de baixo impacto e não cirúrgicos. A maioria dos pacientes pode retornar à atividade normal dentro de um a três dias, com pouca ou nenhuma dor.<sup>6-11</sup>

Para que se iniciasse a produção brasileira, a reprodução dessas patentes não era uma opção. O domínio tecnológico resultou na criação de uma nova metodologia, com um produto inédito e menos custoso que o importado. O processo de manufatura da semente é dividido

em quatro partes: a primeira consiste na fase de depósito do material radioativo em um núcleo; a segunda etapa é a solda da cápsula que envolve o núcleo e o marcador radiológico; a terceira parte é o controle de qualidade e a quarta, a metrologia da semente (atividade). A caracterização dosimétrica também é um procedimento importante, pois garante o cálculo correto da dose no paciente. Vários trabalhos científicos resultaram em um protótipo válido e em metodologias confiáveis para a produção de sementes de  $^{125}\text{I}$  no IPEN. Entretanto, o incremento da linha laboratorial para uma escala industrial, a fim de suprir toda a demanda nacional, ainda não ocorreu.

Simultaneamente aos trabalhos com as sementes de  $^{125}\text{I}$  e a produção comercial de fios de  $^{192}\text{Ir}$  de baixa taxa de dose (LDR), o IPEN recebeu a incumbência de desenvolver e produzir pellets de  $^{192}\text{Ir}$  de alta taxa de dose (HDR) para uso nos equipamentos de "afterloading". Esses sistemas são muito utilizados no Brasil, pois o médico e o físico-médico são preservados da dose de tratamento, já que, durante a inserção da fonte radioativa, somente o paciente fica na sala; a mesa de operação do equipamento fica em um ambiente contíguo. Para produzir esse material, foi necessária a aquisição de uma *hot-cell* de grande porte e a construção de um prédio para receber o equipamento e a linha produtiva.

Dentro da nova diretriz, conseguiu-se a doação de um acelerador médico linear CLINAC 2100 do Hospital Israelita Albert Einstein, e todo o descomissionamento foi realizado sem custos pela VARIAN Medical System, que é a fabricante do equipamento. Esse acelerador será o primeiro no hemisfério sul dedicado à pesquisa. O equipamento encontra-se no IPEN aguardando a construção de um *bunker* para que possa ser instalado e operado. Quando instalado, será utilizado para treinamento de médicos e físico-médicos e para pesquisa científica e tecnológica.

Atualmente, o IPEN, nessa área, objetiva desenvolver novas tecnologias baseadas em nanotecnologia aplicada à braquiterapia. Empregando fontes radioativas na escala nanométrica, poder-se-ia irradiar as células tumorais de dentro para fora, ou seja, o material nanométrico penetra na célula, depositando a energia diretamente em seu núcleo. Dessa forma,

a dose que o paciente receberia durante um tratamento radioterápico seria muito menor, o que causaria menores danos nos tecidos saudáveis. O desenvolvimento tem como objetivo unir as vantagens do tratamento de câncer à braquiterapia com o tamanho e as propriedades das nanopartículas, a fim de criar uma nova modalidade de tratamento, chamada nanobraquiterapia, que hoje é um dos objetos de pesquisa do grupo de Radioterapia do IPEN (ver capítulo *Metrologia das radiações em saúde*).

Em consonância com as novas tecnologias, o grupo de Radioterapia do IPEN tem participado das discussões para a implantação do primeiro acelerador de prótons no país, visando à protonterapia. Essa tecnologia, extremamente nova, possibilitará o tratamento de câncer de alto risco em parâmetros de sucesso mundial. Os tratamentos incluem câncer cerebral, medular e têm sido muito utilizados em crianças, que são pacientes mais suscetíveis aos efeitos em longo prazo da radiação. Nesse contexto, é importantíssimo preparar as metodologias e os protocolos para quando o país implantar a nova modalidade de tratamento.

#### Referências bibliográficas deste capítulo

1. THOM, A.; MARONE, M.; SILVA, C. P. da; BARBÉRIO, J. C. *50 anos da Sociedade Brasileira de Biologia, Medicina Nuclear e Imagem Molecular*. São Paulo: SBBMN, 2012.
2. LINARDI, M. *O IPEN e a inovação tecnológica: passado, presente e futuro*. São Paulo: SENAI, 2016.
3. Entrevista com a Dra. Constância Pagano Gonçalves da Silva, realizada no IPEN.
4. MATTOS, F. R. *Estudo e desenvolvimento de uma semente de irídio-192 para aplicação em câncer oftálmico*. 2013, 89 p. (Dissertação em Tecnologia Nuclear). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN/SP, São Paulo. Disponível em: <http://www.teses.usp.br>. Acesso em: 20 nov. 2018.
5. SCHWARZ, S. B.; THON, N.; NIKOLAJEK, K.; NIYAZIL, M. TONN, J.; BELKA, C.; KRETH, F. Iodine-125 brachytherapy for brain tumours: a review. *Radiation Oncology*, v. 7, n. 1, 2015. p. 30.
6. SOUZA, C. D. de. *Comparação entre métodos de fixação do iodo radioativo em substrato de prata para confecção de fontes utilizadas em braquiterapia*. 2012. 120 p. (Dissertação em Tecnologia Nuclear). Instituto de Pesquisas

Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN/SP, São Paulo. Disponível em: <http://www.teses.usp.br>. Acesso em: 21 out. 2018.

7. VAN DER NOORDAA, M. E. M.; PENGEL, K. E.; GROEN, E.; VAN WERKHOVEN, E.; RUTGERS, E. J.; LOO, C. E.; VOGEL, W.; VRANCKEN PEETERS, M. J. T. The use of radioactive iodine-125 seed localization in patients with non-palpable breast cancer: a comparison with the radioguided occult lesion localization with 99m technetium. *European Journal of Surgical Oncology*, v. 41, n. 4, p. 553-558, 2015.
8. GOBARDHAN, P. D.; DJAMIN, R. S.; ROMME, P. J. H. J.; WIT, P. E. J.; GROOT, H. G. W.; ADRIAENSEN, T.; TURKENBURG, J. L.; VEEN, E. J. The use of iodine seed (I-125) as a marker for the localization of lung nodules in minimal invasive pulmonary surgery. *European Journal of Surgical Oncology*, v. 39 n. 9, p. 945-950, 2013.
9. STANNARD, C.; MAREE, G.; TOVEY, S.; HUNTER, A.; WETTER, J. Iodine-125 brachytherapy in the management of squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx. *Brachytherapy*, v. 13, n. 4, p. 405-412, 2014.
10. JOYCE, F. M. D.; BURCHARTH, F. M. D.; HANS, H.; HOLM, M. D.; STIWOYER I. M. D. Ultrasonically guided percutaneous implantation of iodine-125 seeds in pancreatic carcinoma. *International Journal Radiation Oncology*, v. 19, n. 4, p. 1049-1052, 1990.
11. SOUZA, C. D. de. *Braquiterapia com sementes de Iodo-125: manufatura e tratamento*. 2009. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Física Médica), Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências: Botucatu, São Paulo. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br>. Acesso em: 2 nov. 2018.

The image shows several glass vials of varying sizes, each with a white cap. On top of each cap is a black radiation warning symbol, consisting of three blades radiating from a central circle. The vials are arranged in a cluster, with some in the foreground and others in the background, creating a sense of depth. The background is dark and slightly blurred, focusing attention on the vials. The overall tone is clinical and serious.

# Radiofármacos

A medicina nuclear é uma especialidade médica que hoje possibilita as maiores chances de diagnóstico preciso e o tratamento de doenças relevantes, como o câncer. Além disso, possui importantes aplicações em problemas cardíacos, avaliação das atividades cerebrais, entre outras. O mercado global de medicamentos nucleares foi estimado em US\$ 9,6 bilhões em 2016, com radioisótopos médicos respondendo por cerca de 80% do mercado total, e pronto para atingir US\$ 17 bilhões até 2021.<sup>1</sup>

Mais de 40 milhões de procedimentos de medicina nuclear são realizados a cada ano no mundo, e a demanda por radioisótopos está aumentando. Nos países desenvolvidos, cerca de uma pessoa em cada 50 faz uso da medicina nuclear de diagnóstico todos os anos, e a frequência de terapia com radioisótopos é de cerca de um décimo disso. Mais de 10 mil hospitais em todo o mundo usam radioisótopos na medicina, e cerca de 90% dos procedimentos são para diagnóstico. Nos EUA ocorrem mais de 20 milhões de procedimentos de medicina nuclear por ano, e na Europa, cerca de 10 milhões. Na Austrália ocorrem cerca de 560 mil por ano, dos quais 470 mil usando isótopos provenientes de reatores. O uso de radiofármacos no diagnóstico está crescendo a mais de 10% ao ano.<sup>2</sup>

Desde 1981, o IPEN produz e distribui geradores de  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$  com tecnologia própria, importando, entretanto, o  $^{99}\text{Mo}$ . Desde 2009, o Brasil tem dificuldade no abastecimento de radioisótopos, utilizados em cerca de 80% dos procedimentos adotados pela medicina nuclear. Esse fato se deve à paralisação do reator canadense que abastecia todo o mercado brasileiro e 40% do mundo.

Nas últimas décadas, houve a criação de um monopólio mundial de produção e distribuição de  $^{99}\text{Mo}$  pela empresa Nordion, do Canadá. Quando essa empresa teve seus reatores e instalações sujeitos a problemas técnicos e de licenciamento a partir de 2008, o primeiro efeito foi a redução da oferta desse radioisótopo e, em particular no Brasil, o aumento do preço por Ci oferecido pela Nordion. O mundo foi surpreendido e, a partir de 2009, o IPEN passou a receber  $^{99}\text{Mo}$  da Argentina e da África do Sul, além de geradores prontos de vários produtores mundiais, mas na melhor situação foi suprida no máximo 70% da demanda da classe médica brasileira dos geradores de  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ .

Desde então, o país busca outros fornecedores importados, já que cerca de 2 milhões de procedimentos médicos por ano utilizam os radiofármacos no Brasil, e 30% contam com cobertura do Sistema Único de Saúde (SUS).<sup>3</sup> A situação, porém, criou a expectativa de se garantir ao país independência na produção dos radioisótopos utilizados. O Reator Multipropósito Brasileiro (RMB), empreendimento da Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN), tornará isso possível, e o desenvolvimento acontecerá na cidade de Iperó (SP). Ao todo, o RMB ocupará 2 milhões de  $\text{m}^2$ , contendo, além do reator, laboratórios, aceleradores de partículas e *lasers* de alta potência. Também haverá no local laboratórios para desenvolvimento e produção de radiofármacos (ver capítulo *Reator Multipropósito Brasileiro*).

O Brasil está a caminho de se tornar autossuficiente na produção de radioisótopos e radiofármacos, substâncias essenciais na medicina nuclear. Atualmente, nesse mercado, os principais riscos associados são decorrentes do fato de alguns insumos serem importados, em especial o  $^{99}\text{Mo}$ . Nesse caso, o IPEN/CNEN é dependente da capacidade de fornecimento do mercado mundial, dos preços praticados bem como da variação cambial. A solução definitiva para a dependência externa só virá quando for concluída a implantação do Reator Multipropósito Brasileiro (RMB), prevista para 2024. O RMB representa a solução definitiva para garantir a segurança no suprimento de radioisótopos para a produção de radiofármacos, por meio da nacionalização da produção do

radioisótopo  $^{99}\text{Mo}$ , garantindo segurança no fornecimento do gerador de  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ . Com isso, haverá o pleno atendimento da demanda da população brasileira e de todos os outros radioisótopos produzidos em reatores de pesquisa, que hoje são importados pelo Brasil, para aplicação médica tanto em diagnóstico como em terapia.

Ao longo de seus sessenta anos de existência, o IPEN sempre teve a preocupação de manter a melhor relação com a sociedade, atendendo a políticas públicas setoriais e respeitando o meio ambiente. Por se tratar de uma instituição de pesquisa multidisciplinar, foi visionário no estabelecimento de uma cooperação entre as áreas de ciências exatas e saúde, vinculada aos setores nuclear e radioativo, no controle operacional ambiental, com estudos do impacto destas no meio ambiente, seguindo as legislações federal, estadual e municipal vigentes aplicáveis e as normas estabelecidas pela Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN). Nesse aspecto, em 2016, o IPEN recebeu sua licença ambiental de operação (n. 1.325/2016 - Processo n. 02001.005381/2000-47), expedida pelo IBAMA, com validade até fevereiro de 2026, resultado de um compromisso sério, que atesta sua responsabilidade perante programas de controle ambiental, segurança e prevenção. Além disso, a Instituição possui laboratórios com certificação ISO e acreditação de procedimentos.

O IPEN foi e continua sendo um dos grandes responsáveis pelo desenvolvimento da medicina nuclear no Brasil e em outros países da América Latina, considerado pioneiro na introdução de novos radiofármacos, incluindo sua distribuição e logística, envolvendo o manuseio de radioisótopos, com qualidade, para serem injetados em seres humanos com a atividade radioativa correta para uso médico.

De fato, a sinergia entre o IPEN e os centros de medicina nuclear no Brasil tem levado a um número crescente de sistemas de imagem PET/SPECT/CT em hospitais e clínicas particulares. O SPECT/PET/CT tem revolucionado o diagnóstico precoce do câncer e de doenças neurológicas. Essa técnica de diagnóstico por imagem, além de mostrar a anatomia do corpo humano, tem a capacidade de avaliar alterações metabólicas do organismo antes mesmo que a anatomia seja afetada.

Salienta-se também que por volta de 90% dos radiofármacos utilizados no Brasil são desenvolvidos totalmente no IPEN. Assim, a natureza das atividades priorizadas no Instituto é naturalmente multidisciplinar e envolve vários parceiros, hospitais e clínicas. A proposta institucional é capacitar o IPEN, e por consequência o país, para a produção de novos radiofármacos, e o uso de radiações, permitindo avanços em medicina nuclear (demanda anual crescente). Essa deve ser uma estratégia nacional na área de saúde.

Em 2019, contabilizam-se 38 produtos fornecidos pelo IPEN para a área médica nacional, os quais se encontram classificados da seguinte forma:<sup>4</sup>

- gerador de tecnécio (Figura 5);
- radioisótopos primários;
- moléculas marcadas com  $^{123}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{51}\text{Cr}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{153}\text{Sm}$ ,  $^{111}\text{In}$  e  $^{177}\text{Lu}$ ;
- reagentes liofilizados para marcação com  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  (Figura 6).

5 Gerador de  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  produzido no IPEN e distribuído a centenas de clínicas e hospitais semanalmente. Crédito: Marcello Vitorino/Fullpress.





6 Conjunto de blindagens de chumbo para marcação de reagentes liofilizados com  $^{99m}\text{Tc}$ . Crédito: E. R. Paiva.

Os radiofármacos podem ser subdivididos em dois grupos distintos, sendo um referente aos que apresentam tempo de decaimento radioativo (meia-vida) inferior a 2 h e outro aos de meia-vida acima de 2 h. O primeiro grupo, no qual se enquadra o  $^{18}\text{F}$ -FDG ( $^{18}\text{F}$ -Fluorodesoxiglicose), utilizado em PET, teve o monopólio da União na produção e comercialização flexibilizado pela Emenda Constitucional n. 49, de 2006, o que permitiu a entrada de produtores privados nesse segmento. A tendência é de crescimento no número de produtores no país, já que, em função da sua meia-vida baixa, a instalação de produção deve ficar próxima ao local de aplicação. Fazem parte do segundo grupo os demais 37 radiofármacos fornecidos, dentre os quais o gerador de  $^{99m}\text{Tc}$ , que é utilizado em mais de 80% dos procedimentos de medicina nuclear no Brasil. Quanto à área de aplicação, os radiofármacos em medicina nuclear são hoje utilizados nas áreas de diagnóstico e terapia.

Os radioisótopos são uma parte essencial dos procedimentos de diagnóstico médico. Em combinação com dispositivos de imagem PET/SPECT/CT, eles podem estudar os processos dinâmicos que ocorrem em

várias partes do corpo. A escolha de um radionuclídeo para aplicação em diagnóstico depende principalmente de suas características físicas, nomeadamente tipo de emissão nuclear, tempo de meia-vida e energia das partículas e/ou radiação emitida. De fato, é esperado que a energia do fóton gama emitido pelo radionuclídeo que entra na composição de um radiofármaco para diagnóstico, situe-se entre os 80-300 keV, de forma a proporcionar uma imagem de boa qualidade. Além do mais, o tempo de meia-vida de um radionuclídeo associado a um radiofármaco deve ser suficiente para realizar o preparo do radiofármaco, sua administração no paciente e a aquisição da imagem por PET/SPECT. Para a aquisição de imagem SPECT e PET, são utilizados radiofármacos que têm em sua composição radionuclídeos emissores de radiação gama (SPECT) e radiofármacos, que por sua vez contêm em sua composição emissores de pósitrons ( $\beta^+$ ) (PET).

Os radiofármacos utilizados hoje em dia para diagnóstico podem ser classificados em radiofármacos de perfusão (Quadro 1) e radiofármacos específicos (Quadro 2). Os radiofármacos de perfusão são transportados no sangue e atingem o órgão-alvo de acordo com o fluxo sanguíneo. Não possuem especificidade por nenhum alvo e são majoritariamente distribuídos pelo corpo de acordo com o tamanho e a carga do composto. Os radiofármacos específicos, por outro lado, são direcionados para o local-alvo por moléculas biologicamente ativas, por exemplo, anticorpos ou peptídeos, que interagem com receptores celulares específicos. Os radiofármacos específicos têm como objetivo detectar alterações na concentração de receptores ou moléculas em tecidos biológicos, para os quais a expressão desses receptores se encontra significativamente alterada em comparação com tecido saudável.

Muitos dos radiofármacos produzidos pelo IPEN e em uso clínico no Brasil correspondem a radiofármacos de perfusão. No entanto, a atenção da pesquisa na área da radiofarmácia encontra-se cada vez mais voltada à busca de radiofármacos específicos. No diagnóstico, cerca de 90% dos radiofármacos usados hoje contêm em sua composição  $^{99m}\text{Tc}$ . Esse fato deve-se às características físicas do  $^{99m}\text{Tc}$  com uma meia-vida

Quadro 1: Radiofármacos de perfusão utilizados para diagnóstico em medicina nuclear

Radiofármaco	Aplicações
	<b>Tireoide</b>
$^{99m}\text{Tc}$ (Pertecnetato de sódio)	Estudo da tiroide
$^{131}\text{I}$ (Iodeto de sódio)	Diagnóstico da glândula da tiroide
$^{123}\text{I}$ (Iodeto de sódio)	Estudo funcional e morfológico da glândula da tiroide
	<b>Sistema nervoso central</b>
$^{99m}\text{Tc}$ -Ácido dietilenotriamino pentacético (DTPA)	Cintilografia cerebral
$^{99m}\text{Tc}$ -Etilenodiacetato dietil éster (ECD)	Estudo de perfusão cerebral
$^{123}\text{I}$ -Iobengano	Diagnóstico de feocromocitomas e neuroblastomas
$^{131}\text{I}$ -Iobengano	Diagnóstico e terapia de feocromocitomas e neuroblastomas
$^{99m}\text{Tc}$ -Glucoheptonato de cálcio (GHA)	Cintilografia cerebral
	<b>Deteção de tumores</b>
$^{67}\text{Ga}$ (Citrato de gálio)	Localização de tumores em tecido mole e lesões inflamatórias
$^{111}\text{In}$ Octreotídeo-DTPA (OCT)	Estudo de tumores neuroendócrinos e outros tipos de câncer, como linfoma, rim, pulmão, cérebro e mama
$^{99m}\text{Tc}$ -Dextrana 70 $^{99m}\text{Tc}$ -Dextrana 500	Estudo do sistema linfático e pesquisa de linfonodo sentinela
$^{111}\text{In}$ -Pentetreótida	Diagnóstico de tumores neuroendócrinos
$^{68}\text{Ga}$ -octreotato tetraxetana (OCT)	Imagens PET e PET-CT de tumores neuroendócrinos
	<b>Sistema cardiovascular</b>
$^{201}\text{Tl}$ (Cloreto de tálio)	Imagem cardíaca, avaliação do nível de lesão no músculo cardíaco em repouso e em exercício. Estudo de perfusão do miocárdio
$^{99m}\text{Tc}$ -Pirofosfato de sódio (PIRO)	Diagnóstico do enfarte agudo do miocárdio
$^{99m}\text{Tc}$ -Albumina humana sérica (SAH)	Pool sanguíneo e ventriculografia
$^{99m}\text{Tc}$ -Metoxi-isobutilisonitrila (MIBI)	Imagem cardíaca, avaliação de perfusão do miocárdio
$^{99m}\text{Tc}$ -Albumina humana sérica	Ventriculografia

(continua)

Quadro 1: Radiofármacos de perfusão utilizados para diagnóstico em medicina nuclear (continuação)

Radiofármaco	Aplicações
	Sistema excretor urinário
<sup>131</sup> I-Hippuran <sup>131</sup> I-Hipurato de sódio	Estudo da função renal
<sup>51</sup> Cr-EDTA	Determinação de taxa de filtração glomerular
<sup>99m</sup> Tc-Ácido dimercaptosuccínico (DMSA)	Cintilografia renal
<sup>99m</sup> Tc-Ácido dietilenotriamino pentacético (DTPA)	Cintilografia renal
<sup>99m</sup> Tc-Etilenodiacisteína (EC)	Estudo da função renal
<sup>99m</sup> Tc-Glicohexonato de cálcio (GHA)	Cintilografia renal
<sup>51</sup> Cr-Edetato de crômico	Determinação de taxa de filtração glomerular
	Sistema excretor hepatobiliar
<sup>99m</sup> Tc-Ácido diisopropil iminodiacético (DISIDA)	Cintilografia hepatobiliar
<sup>99m</sup> Tc-Ffluoreto estanoço (TIN)	Cintilografia hepatoesplênica
<sup>99m</sup> Tc-Fitato de sódio (FITA)	Cintilografia hepática – pesquisa de nódulo sentinela
<sup>99m</sup> Tc-Disofenina (DISI)	Cintilografia do sistema hepatobiliar
	Tumores ósseos
<sup>18</sup> F (Fluoreto de sódio) <sup>99m</sup> Tc-Ácido medrônico (MDP)	Detecção de zonas com osteogênese alterada e metástases de tumor pulmonar, de mama e próstata
<sup>99m</sup> Tc-Pirofosfato de sódio (PIRO)	Cintilografia óssea
	Sistema pulmonar
<sup>99m</sup> Tc-Macroagregado de albumina humana sérica	Cintilografia pulmonar
	Hematologia
<sup>131</sup> I-Soroalbumina humana	Determinação de volume plasmático e sanguíneo
<sup>51</sup> Cr (Cromato de sódio)	Marcação de eritrócitos. Gamagrafia esplênica. Cintilografia esplênica e sobrevida de hemácias
<sup>51</sup> Cr-Soroalbumina humana	Determinação de perda entérica de proteína

(continua)

Quadro 1: Radiofármacos de perfusão utilizados para diagnóstico em medicina nuclear (continuação)

Radiofármaco	Aplicações
<sup>201</sup> Tl (Cloreto de tálio)	Marcação de eritrócitos. Gamagrafia esplênica. Cintilografia esplênica e sobrevida de hemácias
<sup>51</sup> Cr-Soroalbumina humana	Estudo da perda de proteína gastrointestinal

Quadro 2: Radiofármacos específicos utilizados para diagnóstico em medicina nuclear

Radiofármaco	Aplicações
	Detecção de tumores
<sup>18</sup> F-Fluorodeoxiglicose (FDG)	Imagens PET e PET-CT em oncologia, cardiologia e neurologia
<sup>123</sup> I-Metaiodobenzilguanidina (MIBG)	Cintilografias de tumores suprarrenais e feocromocitomas – neuroblastoma.

de 6 horas, emissão gama de 140 KeV de energia e disponibilidade em geradores de baixo custo. O tempo de meia-vida do <sup>99m</sup>Tc é suficientemente longo para a preparação dos radiofármacos, administração e aquisição das imagens e suficientemente curto para minimizar a dose de radiação para o paciente. Esses radiofármacos são utilizados na clínica em diversas áreas.

Os usos de radioisótopos na terapia são comparativamente poucos se confrontados com seus usos no diagnóstico, e sua aplicação se resume sobretudo à área oncológica. No Quadro 3 são apresentados os radioisótopos produzidos pelo IPEN para esse fim. De fato, alguns tumores podem ser controlados ou eliminados através da irradiação da área que contém o tumor. A irradiação externa (às vezes chamada de teleterapia) pode ser realizada usando um feixe gama de uma fonte radioativa de <sup>60</sup>Co. Esse tipo de terapia é eficaz na eliminação de tumores que não podem ser removidos cirurgicamente. A terapia interna com radionuclídeos, por

sua vez, é administrada por meio da implantação de uma pequena fonte de radiação, em geral um emissor gama ou beta, na área-alvo.

A radioterapia de curto alcance é conhecida como braquiterapia e é a forma mais comum de tratamento hoje em dia. O  $^{131}\text{I}$  é o radioisótopo mais utilizado para tratar câncer de tireoide e o mais bem-sucedido no tratamento de câncer. Além desse radioisótopo, o IPEN é responsável pela produção e disponibilização de 16 mil sementes de  $^{125}\text{I}$  por ano, utilizadas para o tratamento de câncer de próstata e cérebro. Os implantes de  $^{192}\text{Ir}$  são usados sobretudo no tratamento de câncer de cabeça, mama e próstata. Eles são produzidos na forma de fios e introduzidos através de um cateter na área-alvo. Esse produto é o mais produzido (cerca de 10 mil Ci/ano) pelo IPEN para terapia de câncer. Os procedimentos de braquiterapia oferecem menos radiação global ao corpo e são mais localizados no tumor-alvo. Outro exemplo é o  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-Octreotate, empregado para tratar tumores como os neuroendócrinos e eficaz quando outros tipos de tratamentos falham.

Vários dos procedimentos terapêuticos com radioisótopos são paliativos, utilizados para aliviar a dor: por exemplo, o  $^{153}\text{Sm}$ , que é aplicado para o alívio da dor óssea ocasionada por metástases.

Quadro 3: Radioisótopos produzidos no IPEN utilizados em terapia

Radiofármaco	Aplicações
	Antitumorais
$^{131}\text{I}$ -cápsula	Terapia de câncer de tireoide e hipertireoidismo
$^{153}\text{Sm}$ -EDTMP	Alívio das dores produzidas por metástase óssea
$^{177}\text{Lu}$ -DOTA-Octreotate	Tratamento de tumores neuroendócrinos
$^{131}\text{I}$ -Lipiodol	Terapia de hepatomas
	Outros
$^{153}\text{Sm}$ -Hidroxiapatita	Tratamento de artrite reumatoide ou sinovectomia
$^{90}\text{Y}$ -Hidroxiapatita	Tratamento de artrite reumatoide

Assim como no diagnóstico, os radioisótopos terapêuticos podem ser acoplados a uma molécula (como peptídeos ou anticorpos) que, quando injetada nos pacientes, reconhece, de forma específica, órgãos e células como alvo terapêutico. Os radioisótopos mais utilizados na terapia (radioterapia) são os emissores de partículas  $\beta^-$ , que permitem uma dose de radiação uniforme apesar de sua deposição heterogênea nos tecidos-alvo. O  $^{177}\text{Lu}$  é essencialmente um beta-emissor de baixa energia, e, quando ligado a uma molécula transportadora, consegue se anexar à superfície do tumor. O radionuclídeo  $^{90}\text{Y}$  é utilizado para o tratamento do câncer, sobretudo do linfoma não Hodgkin e do câncer de fígado, e está sendo usado mais amplamente no tratamento da artrite. Hoje em dia,  $^{177}\text{Lu}$  e  $^{90}\text{Y}$  têm se tornando os principais agentes da radioterapia, e o IPEN tem investido esforços na pesquisa pelo uso desses radioisótopos ligados a substâncias químicas e biológicas altamente específicas para o tratamento de algumas doenças, como o câncer.

Neste cenário, a Radiofarmácia do IPEN conta com o conhecimento de cientistas líderes nessas atividades, que mantêm intensa ação de apoio às tarefas de tal solicitação. Outro fator importante é o fato de o IPEN possuir dois Programas de Pós-Graduação: um IPEN/USP acadêmico, **Tecnologia Nuclear**, nota 6 da CAPES, de excelência, e um segundo com governança IPEN, **Tecnologia das Radiações em Ciências da Saúde**, profissional, que entrou em funcionamento em 2019. Esses alunos, incluindo outros de pós-doutorado, são elementos-chave para o desenvolvimento e a obtenção de novos produtos de medicina nuclear no Brasil.

Na grande área radiofármacos, o IPEN desenvolve várias pesquisas, visando à obtenção de novos produtos, inéditos no Brasil e/ou no mundo, para ofertar no mercado. Para dar suporte a esses estudos, conta com o sistema de imageamento microPET/SPECT/CT (Albira), que permite a realização dos ensaios pré-clínicos em pequenos roedores, de forma a validar a pesquisa de novos produtos. A investigação do IPEN, nessa área, encontra-se dividida em três grandes grupos, a saber:

desenvolvimento de radiofármacos inovadores, desenvolvimento de radiofármacos de uso consagrado e otimização de processos.

A nacionalização ou introdução no Brasil de radiofármacos já consagrados no exterior é uma atividade essencial para o acesso de pacientes a novos métodos de diagnóstico/terapia em hospitais e clínicas brasileiras. Esse tipo de estudo envolve desde a pesquisa básica de padronização das condições de produção, utilizando *kits* disponíveis comercialmente, controle de qualidade, realização de ensaios de toxicidade, ensaios pré-clínicos e até mesmo a repetição de ensaios clínicos para fins de registro do radiofármaco.

Na modernização, em andamento, da infraestrutura fabril do Centro de Radiofarmácia do IPEN, as tecnologias baseadas em inteligência artificial e ciência dos dados, incorporadas à fabricação dos radiofármacos, facilitarão a visão e as tomadas de decisão no processo fabril. Sistemas e sensores inteligentes informarão aos equipamentos a melhor forma de funcionamento e como estarão envolvidos em cada estágio do processo de manufatura, fornecendo dados, como *feedback*, a fim de obter maior controle da produção. Por meio desses sensores, o *Enterprise Performance Management* (EPM) coletará informações que serão classificadas pelos operadores das linhas e dos processos. Essas informações serão armazenadas em banco de dados e apresentadas por diversos indicadores e gráficos de fácil análise, reduzindo-se assim os controles individuais das planilhas Excel atualmente utilizadas no Centro de Radiofarmácia, além do tempo na atualização dos indicadores e de análise. Essa solução, junto aos times de produção, manutenção, PPCT (planejamento, programação e controle da produção), TI (tecnologia da informação) e qualidade, visa obter informações da produção em tempo real e com todo o histórico armazenado em banco de dados, a fim de aumentar a produtividade e a capacidade ao mesmo tempo em que reduz os custos de produção.

Assim, o avanço tecnológico possibilitará que as decisões estratégicas sejam mais bem elaboradas e as análises sejam feitas com mais exatidão e em menos tempo, com indicadores de manutenção e

eficiência global dos equipamentos, análises de falhas, motivos de paradas e desempenho das linhas de produção, PPCT, alertas automáticos, histórico de tempos de processo, *lead time* dos produtos, entre outros. As áreas de qualidade, com a grande base de dados gerados, poderão auxiliar a investigação dos desvios, uma vez que o nível de detalhamento das informações incluirá todos os eventos ocorridos durante a execução dos lotes produzidos.

Foram elencadas dezoito linhas de pesquisa relevantes nessa área de atuação do Instituto:

1. Desenvolvimento de radioimunoconjugados baseados no anticorpo anti-HER2. Influência dos agentes quelantes e dos radionuclídeos nas propriedades biológicas

Levando em consideração a influência dos agentes quelantes bifuncionais utilizados na conjugação dos anticorpos, na eficiência de radio-marcção, bem como nas propriedades biológicas do radioimunoconjugado, esse trabalho objetiva comparar o potencial dos agentes quelantes bifuncionais, DTPA e DOTA, combinados com os radionuclídeos  $^{111}\text{In}$ ,  $^{64}\text{Cu}$  e  $^{177}\text{Lu}$ . A avaliação comparativa levará em consideração parâmetros como eficiência de marcação, estabilidade da conjugação e da radiomarcção, bem como a avaliação das propriedades biológicas dos radioimunoconjugados, incluindo o padrão de biodistribuição, as propriedades farmacocinéticas, a imunorreatividade e a porcentagem de ligação às células tumorais, além da estabilidade *in vivo*. O estudo pretende identificar os radioimunoconjugados com melhores características produtivas, de estabilidade e propriedades biológicas que possam ser empregados como um par teranóstico no diagnóstico e na terapia de tumores que expressam receptores HER2.

O câncer de mama do subtipo HER2 positivo possui elevada expressão da proteína oncogênica HER2, que ocorre em aproximadamente 20% a 30% dos casos. O trastuzumabe é um anticorpo monoclonal anti-HER2 humanizado IgG1, utilizado em tumores que superexpressam

o receptor HER2. Em oncologia, a radiomarcção de anticorpos possui finalidade diagnóstica e terapêutica e foi desenvolvida há mais de trinta anos. Atualmente, existe grande interesse em sua utilização na avaliação e no seguimento de respostas a tratamentos específicos, avaliação quantitativa e não invasiva da expressão do alvo. Esse desenvolvimento possui parceria com o Hospital do Câncer de Barretos.

2. Estudo de biodistribuição de radiofármacos marcados com  $^{99m}\text{Tc}$  pelo método invasivo e não invasivo utilizando o microPET/SPECT/CT

O objetivo desse trabalho é estudar o potencial do método de imagem em microSPECT/CT na avaliação quantitativa da biodistribuição de DMSA-TEC e ECD-TEC e de outros radiofármacos marcados com  $^{99m}\text{Tc}$ , comparando os resultados com os métodos invasivos atualmente utilizados no IPEN.

O estudo da biodistribuição e concentração de material radioativo em órgãos e sistemas é necessário para obter um exame de qualidade, estudar o comportamento molecular e garantir que as doses absorvidas em órgãos circunvizinhos sejam tão baixas quanto razoavelmente exequíveis. O estudo da farmacocinética e biodistribuição é importante para avaliar o comportamento do radiofármaco *in vivo* e serve para entender os ensaios pré-clínicos e toda a farmacologia em modelo animal.

Durante a maior parte do século passado a pesquisa científica basicamente estava limitada a estudos *in vitro* de processos celulares e exames de processos *in vivo* em modelos animais adequados de doença. Nas últimas três décadas, sobretudo na década passada, foram desenvolvidas novas técnicas que permitem a aquisição de imagens em animais vivos. A monitoração por método não invasivo de processos biológicos contribui substancialmente para o desenvolvimento de novos fármacos.

Os estudos pré-clínicos pelo método não invasivo podem contar com o auxílio de equipamentos de imagens, por exemplo, o microPET/SPECT/CT, que combina as técnicas de imagem de tomografia por emissão de pósitron (PET), tomografia por emissão de fóton único

(SPECT) e tomografia computadorizada (CT) para uso em animais de pequeno porte. As imagens, denominadas cintilografias, demonstram a presença do radiofármaco em determinado órgão e refletem sua morfologia e função. Por meio da cintilografia é possível delimitar a região de interesse e calcular a porcentagem de dose retida em um órgão específico.

As farmacopeias europeia e americana recomendam que estudos de controle de qualidade de radiofármacos envolvendo sistemas biológicos sejam realizados por métodos invasivos. Entretanto, esses métodos consomem mais tempo e aumentam a exposição do trabalhador à radiação. Por outro lado, a imagem pré-clínica permite uma perspectiva de estudos longitudinais e, sendo assim, possui potencial para fornecer medições quantitativas de biodistribuição de radiotraçadores e reduzir o número de animais necessários por estudo, que é mais rentável e mais ético do que os métodos tradicionais encontrados na literatura. Esse desenvolvimento possui parceria com o Instituto de Psiquiatria do Centro de Medicina Nuclear do Hospital das Clínicas da USP.

### 3. Avaliação da especificidade biológica do radiofármaco PSMA-HBED-CC-<sup>68</sup>Ga em modelos tumorais *in vitro* e *in vivo*

Objetiva-se nessa pesquisa demonstrar a eficácia de ligação do PSMA-HBED-CC-<sup>68</sup>Ga aos receptores tumorais, contribuindo para a conclusão dos estudos pré-clínicos necessários para aplicação clínica do radiofármaco, além de contribuir para a validação dos métodos do controle de sua qualidade. Além disso, pretende-se avaliar as condições de marcação direta do peptídeo com o eluído do gerador de <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga, contribuindo para o desenvolvimento de um *kit* para pronta marcação, sem a necessidade de utilizar um módulo de síntese automatizado.

O câncer de próstata apresenta desenvolvimento lento, tem origem ainda não muito conhecida e manifesta, na maioria dos casos, altas chances de reincidência tumoral. Hoje, o desafio da prática clínica

perante o diagnóstico do câncer de próstata dá-se pela divergência de resultados quando a biópsia e o toque retal apresentam resultados negativos, contra o elevado nível sérico de PSA. Visando contar com métodos de diagnóstico mais precisos, com um grau maior de especificidade e seletividade, há interesse em estudos com marcadores moleculares tendo como alvo o PSMA (antígeno de membrana específico da próstata), já que este é sobre-expresso no câncer de próstata, podendo diminuir as taxas de resultados falso-positivos. O destaque dá-se para os estudos com um peptídeo inibidor do receptor de PSMA, quelado ao quelante HBED-CC (ácido N,N'-bis[2-hidroxi-5-carboxiletil-benzil]etilenediamino-N,N'-diacético) e radiomarcado com  $^{68}\text{Ga}$ . De acordo com os estudos anteriores de radiomarcagem do PSMA-HBED-CC (também conhecido como PSMA-11) com  $^{68}\text{Ga}$ , já desenvolvidos no IPEN, obteve-se uma pureza radioquímica na produção do radiofármaco PSMA-HBED-CC- $^{68}\text{Ga}$  superior a 95%, além do fato de o rendimento de sua síntese em módulo automatizado ser da ordem de 90%. A pesquisa inclui a avaliação da especificidade do produto por células que expressam PSMA, por meio de estudos *in vitro* e *in vivo*, de modo a determinar o potencial de ligação do radiofármaco PSMA-HBED-CC- $^{68}\text{Ga}$  aos receptores das células tumorais.

Adicionalmente, para que o novo radiofármaco possa ser utilizado em locais distantes do local de produção (IPEN, São Paulo), esse projeto pretende estudar uma formulação de PSMA-HBED-CC para marcação direta com o eluído do gerador de  $^{68}\text{Ge}$ - $^{68}\text{Ga}$ , contribuindo para o desenvolvimento de um *kit* para pronta marcação, que possa ser comercializado e distribuído em todo o país. Essa apresentação do radiofármaco representa uma tendência mundial de aplicação de radiofármacos de  $^{68}\text{Ga}$ , a partir da comercialização recente de geradores ditos "GMP" (*Good Manufacturing Practices*), para os quais o eluído do gerador apresenta propriedades para ser utilizado diretamente na marcação de peptídeos formulados a partir de *kits* para marcação. O desenvolvimento possui parceria com o Hospital do Câncer de Barretos na doação de linhagem celular.

4. Obtenção de *kit* de PSMA-617 para pronta marcação com  $^{177}\text{Lu}$  e avaliação de sua aplicabilidade no tratamento do câncer de próstata

Essa linha de pesquisa visa ao estudo da radiomarkação do PSMA-617 com  $^{177}\text{Lu}$  de modo a desenvolver um *kit* para pronta marcação com potencial aplicabilidade na rotina de produção desse radiofármaco. Devem ser avaliados os parâmetros de marcação para obtê-lo com alta pureza radioquímica (acima de 95%) e alta atividade específica, bem como estabelecer os métodos cromatográficos para determinação de pureza e possíveis contaminantes. Também é objetivo desse trabalho avaliar as condições de transporte e acondicionamento, com o intuito de garantir a segurança do paciente. Por fim, o trabalho visa também analisar o potencial terapêutico desse radiofármaco com estudos pré-clínicos, incluindo ensaios *in vitro* de ligação a células tumorais e estudos *in vivo* com animais sadios e com modelo tumoral de câncer de próstata. Todos esses dados serão utilizados para solicitar à ANVISA e ao Conselho de Ética e Pesquisa autorização para o início de uma pesquisa clínica no Brasil.

O PSMA é um antígeno (glicoproteína tipo 2) de membrana prostática específico (pode ser encontrado na membrana ou no citoplasma da célula). Sabe-se que esse antígeno é expresso no câncer de próstata e tem sido alvo para tratamento da neoplasia prostática. É sabido que, nos casos de neoplasia maligna prostática não responsiva à castração e tratamento radioterápico e quimioterápico, a sobrevida dos pacientes é reduzida. Com a descoberta do PSMA, teve início a criação de substâncias (antagonistas do PSMA endógeno) que se ligam especificamente ao antígeno, com o objetivo de obter novas terapias mais eficientes para os casos não responsivos. Atualmente alguns antagonistas são estudados, contudo os resultados mais promissores são obtidos com o PSMA-617.

Em um primeiro estágio, serão realizadas marcações com baixa atividade para determinar a melhor faixa de atividade específica ( $\mu\text{g}/\text{mCi}$ ) e a melhor razão molar PSMA-617/ $^{177}\text{Lu}$ , visando à obtenção de um produto estável. Nesse mesmo estágio, serão testados modelos cromatográficos

(camada delgada e cromatografia líquida de alta eficiência). Na segunda etapa serão estudadas as condições de estabilidade, bem como serão realizados ensaios *in vitro* e *in vivo*. Por fim, a última etapa se dará pelo *scale up* da marcação, com atividades compatíveis com a produção. Os estudos clínicos serão conduzidos pelo Hospital do Câncer de Barretos.

5. Estudo para implantação do processo de produção do radiofármaco FES-<sup>18</sup>F em sistema automatizado. Abordagem de validação de processo e de métodos analíticos

Esse trabalho tem por objetivo estudar a síntese do radiofármaco FES-<sup>18</sup>F em módulo automatizado, assim como contribuir para a validação do processo produtivo e das metodologias analíticas utilizadas no controle de qualidade do produto. Também estão planejados os estudos pré-clínicos que demonstrarão a eficácia do produto, incluindo ensaios *in vitro* de ligação a células tumorais e estudos *in vivo* com animais sadios e com modelo tumoral de câncer de mama. Todos esses dados serão utilizados para solicitar à ANVISA autorização para o início de uma pesquisa clínica no Brasil e o registro do produto.

O câncer de mama é uma das principais neoplasias que acometem as mulheres e é uma doença complexa, de alta heterogeneidade clínica, morfológica e biológica. Por ser a segunda maior causa de mortalidade do mundo, é uma questão de saúde pública, portanto a detecção precoce define o prognóstico da doença e a expectativa de vida da paciente. Um avanço para diagnóstico precoce pode ser obtido com o uso do radiofármaco FES-<sup>18</sup>F e a tecnologia dos exames da medicina nuclear, visando a uma terapia individualizada para cada paciente. O FES-<sup>18</sup>F possui afinidade pelo receptor de estrógeno presente em 75% dos casos de câncer de mama, sendo possível sua utilização para diagnóstico e acompanhamento do paciente de forma não invasiva.

O resultado desejado seria a implantação da síntese do FES-<sup>18</sup>F, utilizando um conjunto de reativos comerciais (*kit*). Este é adaptado a um módulo de síntese automatizado que opera através de um *software*.

A validação do processo produtivo constitui parte essencial das Boas Práticas de Fabricação (BPF) e deve ser conduzida de acordo com protocolos, seguindo normas de agências internacionais e órgãos nacionais como a ANVISA (Figura 7). Também se deve realizar a validação dos métodos analíticos utilizados, caso não existam monografias oficiais para o radiofármaco em questão, de acordo com a Resolução n. 899, de 29 de maio de 2003, o “Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos”. Por fim, serão realizados estudos pré-clínicos e de biodistribuição, visando corroborar as exigências para o registro de um radiofármaco novo e inovador (nunca antes comercializado no país), e estudos clínicos que descrevam a segurança e eficácia do produto.

#### 6. Síntese de análogos do Losartan marcados com $^{18}\text{F}$ para fins diagnósticos em oncologia

Os objetivos desse trabalho são a síntese e a avaliação dos compostos  $^{18}\text{F}$ -Fluoroetil-Losartan e  $^{18}\text{F}$ -Losartan para imagem molecular por PET de tumores com expressão positiva do receptor tipo 1 de Angiotensina II (AT1R), utilizando diferentes células tumorais humanas.

O câncer é uma das doenças de maior incidência no mundo e a primeira causa de mortalidade nos países desenvolvidos. A elevada taxa de mortalidade se deve, principalmente, ao diagnóstico tardio da doença. Existe, portanto, uma grande necessidade de desenvolver novas ferramentas de diagnóstico moleculares que poderão ajudar a detectar células cancerosas o mais precocemente possível. Um avanço importante na imagem molecular de tumores foi a introdução da

7 Início da produção rotineira de radiofármacos para exames PET em celas que atendem a exigências de BPF (Boas Práticas de Fabricação), em 2015. Crédito: Elaine Bortoleti.



tomografia por emissão de pósitrons (PET). A PET é uma técnica que permite a medição da função do tecido *in vivo*, utilizando a detecção de raios gama que saem do corpo após a administração de um radiofármaco. O marcador mais utilizado para os estudos do metabolismo do tumor em oncologia é o 2-desoxi-2-<sup>18</sup>F-D-glicose marcado com <sup>18</sup>F radioativo (<sup>18</sup>F-FDG). No entanto, a acumulação do FDG não é específica de tumores, e pode ser encontrada em condições de inflamação, infecção e outros processos benignos, resultando em um teste de baixo valor preditivo no diagnóstico do câncer. Na última década, ficou mais evidente que o sistema Renina-Angiotensina (SRS) está implicado no desenvolvimento de vários tipos de câncer. Por exemplo, a expressão do receptor tipo 1 de Angiotensina II (AT1R) tem sido descrita em vários tipos de tumores e está correlacionada com uma taxa maior de proliferação e angiogênese. O fármaco Losartan é um antagonista específico do receptor AT1R e tem sido amplamente utilizado no tratamento de hipertensão e insuficiência cardíaca congestiva. O fato de o receptor AT1R ser majoritariamente expresso por células tumorais torna o Losartan uma molécula-chave para atuar como traçador tumoral em imagem molecular. Portanto, o objetivo é sintetizar, por reação de substituição nucleofílica e através do procedimento de *click chemistry*, compostos de Losartan marcados com <sup>18</sup>F como novos radiotraçadores para imagem molecular no diagnóstico e acompanhamento em oncologia. Esses novos traçadores serão radioquimicamente caracterizados por parâmetros de controle de qualidade para radiofármacos. Eles serão também avaliados *in vitro* e *in vivo*, utilizando diferentes células tumorais humanas. Fazem parte dessa pesquisa a Faculdade de Farmácia da USP - Ribeirão Preto e o Centro de Pesquisas de Câncer, em Vancouver, Canadá.

7. Validação do uso de um aptâmero de DNA específico para HER2 como radiofármaco para imagem de tumores

Diante dos recentes avanços científicos sobre a importância dos aptâmeros na prevenção e no tratamento do câncer, e da crescente

inovação tecnológica na produção e marcação radioativa de aptâmeros com radionuclídeos, seria de esperar que aptâmeros radiomarcados já estivessem disponíveis em vários centros de referência em oncologia, tanto no Brasil quanto no exterior. Entretanto, a realidade é que o produto Macugen™ permanece o único aptâmero aprovado pela FDA (2004) com função terapêutica. Os objetivos específicos dessa fase I do projeto são a marcação do aptâmero de DNA com  $^{68}\text{Ga}$ ; a avaliação da ligação específica do aptâmero radiomarcado em células tumorais que expressam HER2, por meio de estudos de internalização e retenção celular e de estudos de afinidade; a realização de estudos de estabilidade em salina e soro do aptâmero radioconjugado; e, por fim, a realização de estudos de biodistribuição *in vivo*.

O diagnóstico não invasivo e a medição de processos celulares e moleculares em pacientes com câncer por imagem PET associado à tomografia computadorizada (PET/CT) tem permitido uma melhora considerável na terapia contra o câncer. Hoje em dia, mais de 90% das pesquisas clínicas na detecção de neoplasias malignas utilizam o  $^{18}\text{F}$ -fluorodesoxiglicose ( $^{18}\text{F}$ -FDG). No entanto, esse radiofármaco tem-se demonstrado pouco específico no diagnóstico de alguns tumores e possui alta captação em locais inflamatórios e órgãos saudáveis. Dessa forma, o interesse por agentes de imagem alternativos com capacidade de ligação específica a receptores, antígenos e enzimas tem ganhado cada vez mais interesse na comunidade científica. Os anticorpos monoclonais, devido a sua alta afinidade e especificidade, têm sido os radiofármacos de escolha no direcionamento molecular. No entanto, apesar de seu grande sucesso, os anticorpos estão se tornando cada vez mais obsoletos na imagiologia devido a sua elevada meia-vida na circulação sanguínea, toxicidade hematológica e baixa penetração tecidual. Por causa das suas características biológicas e químicas únicas, os aptâmeros (sequências de oligonucleotídeos de simples fita com capacidade de se ligar com alta afinidade e especificidade a uma molécula alvo em particular) têm surgido como uma nova classe de moléculas com potencial para o diagnóstico *in vivo* de tumores. O presente projeto propõe

validar o uso de um aptâmero de DNA específico para o biomarcador HER2 (altamente expressos em câncer de mama, ovário, cabeça, pescoço e próstata), no diagnóstico de tumores por imagem PET/CT. Para isso, pretende-se radiomarcá-lo com  $^{68}\text{Ga}$  e avaliar sua ligação específica a células tumorais negativas e positivas para a proteína HER2 *in vitro* e *in vivo*. Adicionalmente, serão realizados ensaios de estabilidade em salina e soro e também uma avaliação de pureza radioquímica. Com esse projeto, espera-se demonstrar que esse aptâmero de DNA é capaz de identificar com grande especificidade células tumorais que expressam HER2 e possuem todas as características para serem utilizadas em estudos pré-clínicos na detecção de tumores *in vivo*. Além disso, o interesse se concentra em uma área de investigação (diagnóstico por imagem molecular) na qual o uso de anticorpos é considerado uma desvantagem e onde a demanda clínica por novos agentes de imagem molecular deverá permitir o sucesso da comercialização dos aptâmeros a curto prazo.

#### 8. Desenvolvimento de nanopartículas para tratamento e imagem de tumores que superexpressam o antígeno tumoral sialil-Tn

O alvo principal desse desenvolvimento é a construção de partículas nanoestruturadas de maneira a intervir nos mecanismos moleculares que induzem resistência aos quimioterápicos (Cisplatina) e, ao mesmo tempo, possibilitar o acompanhamento do sucesso da intervenção farmacológica utilizando imagem molecular.

Na última década tem sido feito um esforço na tentativa de identificar alvos terapêuticos mais específicos, com o objetivo de diminuir os efeitos colaterais associados à quimioterapia convencional e de vencer os mecanismos de resistência frequentemente desenvolvidos pelos tumores. Têm-se investigado no IPEN novos mecanismos moleculares que favoreçam a progressão tumoral e o desenvolvimento de resistência aos quimioterápicos, bem como novos marcadores para a detecção precoce de tumores, utilizando métodos de imagem molecular. Recentemente, o grupo relatou uma inter-relação entre a expressão do

antígeno tumoral sialil-Tn e uma proteína chamada galectina-3, como um novo mecanismo de resistência ao quimioterápico cisplatina, utilizando um modelo xenográfico de câncer gástrico. Por outro lado, o grupo de pesquisa do Instituto de Energia Nuclear no Rio de Janeiro (IEN) tem se dedicado à pesquisa de nanorradiofármacos e novos radiofármacos, bem como ao desenvolvimento de formulações radiofarmacêuticas para o tratamento de doenças oncológicas, cardíacas e neurológicas.

Dessa forma, o intuito do projeto é fazer uso dessa interface entre os grupos de pesquisa do IPEN e do IEN, possibilitando a criação de um ambiente científico capaz de potencializar as várias competências, no sentido de desenvolver nanopartículas (NPs) poliméricas capazes de transportar simultaneamente um quimioterápico e moléculas de RNA de interferência (contrassialil-Tn e galectina-3, envolvidas em mecanismos de resistência a quimioterápicos). Além disso, essas NPs serão decoradas com anticorpos específicos (antissialil-Tn ou antigalectina-3) para o endereçamento dessas NPs ao sítio tumoral (alvo); e também radiomarcadas com  $^{99m}\text{Tc}$  para monitoramento do tratamento utilizando imagem molecular (microSPECT/CT). Os dois parceiros nessa pesquisa são a Faculdade de Farmácia da UFRJ e o IEN, ambos do Rio de Janeiro.

9. Caracterização de peptídeos radiomarcados para o diagnóstico de doenças tropicais negligenciadas por imagem molecular SPECT/PET/CT

Objetiva-se a utilização da Ubiquidina,  $\text{UBI}_{29-41}$  radiomarcado com  $^{68}\text{Ga}$  e  $^{99m}\text{Tc}$ , peptído antimicrobiano para a imagem SPECT e PET dos parasitas *Leishmania donovani* e *T. cruzi*. Na ausência de pesquisas relacionadas ao uso de  $\text{UBI}_{29-41}$  na geração de imagens desses parasitas, e devido ao fato de não se saber se o peptídeo mencionado se ligará a *Leishmania donovani*, os peptídeos antiparasitários HNP-1 e Temporizin-1 (que são específicos para alguns gêneros de *Leishmania* e *T. cruzi*, respectivamente) serão utilizados para demonstrar a ligação *in vitro* e *in vivo* aos parasitas e comparar essa ligação com a do  $\text{UBI}_{29-41}$ .

Em seguida, a HNP-1 e a Temporizina-1 serão radiomarcadas com  $^{68}\text{Ga}$  e  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  para imagens de PET e SPECT dos parasitas, e essas imagens serão comparadas com aquelas de UBI<sub>29-41</sub> radiomarcadas.

As doenças tropicais negligenciadas (DTNs) são um grupo diversificado de 17 condições incapacitantes, que afetam principalmente as populações mais pobres do mundo e causam mais de meio milhão de mortes por ano. Embora essas doenças afetem uma parcela considerável da população global, podem ser consideradas negligenciadas devido à extrema carência em tratamentos e recursos efetivos. Entre essas DTNs, as infecções por parasitas humanos causam milhões de mortes em todo o mundo a cada ano. Dessa forma, cada vez mais se torna necessária a busca por novos fármacos antiparasitários que possam ser usados isoladamente ou em conjunto com os fármacos já existentes. A doença de Chagas, cujo agente etiológico é o *Trypanosoma cruzi*, e a leishmaniose, causada por protozoários parasitas de gênero *Leishmania*, são duas das principais DTNs que afetam o Brasil. A emergente e crescente resistência aos antibióticos tornou-se uma ameaça para a saúde pública global e está conduzindo novas pesquisas sobre o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos. Os peptídeos antimicrobianos (AMPs), as biomoléculas conservadas evolutivamente que fazem parte dos mecanismos de defesa em muitos organismos, são candidatos promissores como alternativas aos antibióticos atuais no tratamento e prevenção de infecções microbianas. Sua capacidade de se acumular nos locais de infecção combinados com sua quase citotóxica ou atração quase insignificante para as células hospedeiras torna esses peptídeos atraentes como radiotraçadores para a imagem de infecção por SPECT/PET/CT. A atividade antimicrobiana de peptídeos catiônicos é exercida principalmente contra bactérias e fungos, e alguns efeitos antivirais e anticancerígenos podem ser descritos. Contudo, poucos relatos descrevem suas atividades contra parasitas protozoários e metazoários. A Ubiquidina (UBI) é uma AMP catiônica com uma sequência de 59 aminoácidos. O fragmento 29-41 (UBI<sub>29-41</sub>) é um novo agente de diagnóstico que se liga a agentes infecciosos *in vitro* e se acumula em locais de infecção

*in vivo*. Os dados preliminares demonstram que a UBI<sub>29-41</sub> é capaz de se ligar *in vitro* ao parasita *Trypanosoma cruzi* e também poderia ser alvo de alguns gêneros de *Leishmania*, devido a sua capacidade mencionada de direcionar os agentes de infecção. Portanto, esse projeto visa ao uso do peptídeo antimicrobiano UBI<sub>29-41</sub> radiomarcado com <sup>68</sup>Ga e <sup>99m</sup>Tc para imagens PET e SPECT dos parasitas *Leishmania donovani* (que causa leishmaniose visceral) e *Trypanosoma cruzi*. Há parcerias nessa pesquisa com a Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP e o Departamento de Radiologia, Centro Médico da Universidade de Leiden (LUMC), na Holanda.

10. Síntese de 2-nitroimidazol-glicopeptídeos radiomarcados com <sup>18</sup>F e <sup>68</sup>Ga para a identificação de áreas de hipóxia no microambiente tumoral

Os objetivos dessa pesquisa são a síntese e a caracterização radioanalítica de dois glicopeptídeos, <sup>68</sup>Ga-Glicopeptídeo e <sup>18</sup>F-Glicopeptídeo, a fim de avaliar e quantificar por PET/CT áreas de hipóxia no microambiente tumoral. Ambos os glicopeptídeos radiomarcados serão avaliados em ensaios de captação *in vitro* e *in vivo*, utilizando um modelo tumoral de glioblastoma humano, e comparados com dois radiofármacos, já utilizados em ensaios clínicos para quantificar hipóxia tumoral.

A hipóxia é uma condição patológica caracterizada pela redução no fornecimento de oxigênio para determinado tecido ou célula. Estima-se que 60% dos tumores sólidos em estágios avançados apresentem áreas de hipóxia e anóxia (quase completa ausência de oxigênio). Atualmente se sabe que a hipóxia no microambiente tumoral está intimamente relacionada a: 1) aumento da agressividade tumoral; 2) aumento na taxa de recidivas; 3) aumento de resistência à quimioterapia e radioterapia; e 4) pior prognóstico. Dessa forma, o uso de métodos não invasivos e que possibilitem identificar e quantificar áreas de hipóxia tumoral é de extrema importância no auxílio do tratamento de vários tipos de câncer, permitindo o emprego de estratégias terapêuticas individualizadas. Em comparação

com outros métodos não invasivos de diagnóstico por imagem, a tomografia por emissão de pósitrons (PET) é uma das modalidades mais utilizadas na detecção de hipóxia tumoral devido a sua maior especificidade e resolução espacial. Desde a década de 1980, um grande número de radiofármacos para PET tem sido desenvolvido com a finalidade de identificar/quantificar áreas de hipóxia tumoral. Dentre os radiofármacos específicos para hipóxia, o  $^{18}\text{F}$ -FMISO ( $^{18}\text{F}$ -Fluor-nitroimidazol) é um dos mais utilizados em ensaios clínicos nos EUA e na Europa. Entretanto, a baixa taxa de captação e o longo tempo para acúmulo do  $^{18}\text{F}$ -FMISO nas áreas de hipóxia têm limitado a aplicação clínica do radiofármaco e impulsionado a busca por novos traçadores com características farmacocinéticas e farmacodinâmicas mais favoráveis. O projeto tem como objetivo, assim, a síntese de dois radiofármacos inéditos, marcados com  $^{18}\text{F}$  e  $^{68}\text{Ga}$ , que serão obtidos pela ligação entre o derivado ácido 2-nitroimidazol acético com glicopeptídeos, obtidos através de síntese em fase sólida. Espera-se que a porção glicopeptídica dos radiofármacos sintetizados melhore as propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas, permitindo assim uma maior e mais rápida fixação do radiofármaco no tecido hipóxico. Como controle e efeitos de comparação, propõe-se também a síntese de dois radiofármacos já utilizados ( $^{18}\text{F}$ -FMISO e  $^{18}\text{F}$ -FAZA) para monitorar hipóxia mas que ainda não estão disponíveis comercialmente no Brasil. Esses novos radiofármacos serão radioquimicamente caracterizados por parâmetros de controle de qualidade para radiofármacos e avaliados em ensaios *in vitro* e *in vivo*, utilizando células de glioma humano. Os parceiros nesse desenvolvimento são a Faculdade de Farmácia da USP/Ribeirão Preto e a Universidade de Alberta, no Canadá.

11. Desenvolvimento de *kit* de MAG3-IPEN para marcação com  $^{99\text{m}}\text{Tc}$

A ideia principal desse projeto é produzir e comercializar o reagente liofilizado de MAG3 com formulação IPEN para uso na medicina nuclear, aplicado ao diagnóstico da insuficiência renal.

Como já explicitado, o IPEN tem como missão a pesquisa e o desenvolvimento de novos produtos para atender às necessidades da classe médica para fins de diagnóstico e terapia em medicina nuclear. Entre esses produtos está o desenvolvimento do reagente liofilizado (RL) de MAG3 (mercaptoacetilglicina) para pronta marcação com  $^{99m}\text{Tc}$ . O MAG3- $^{99m}\text{Tc}$  é um radiofármaco utilizado em imagem renal dinâmica para avaliação da secreção tubular. Estudos com MAG3- $^{99m}\text{Tc}$  indicaram uma taxa de excreção mais rápida do que o-hippuran- $^{131}\text{I}$ , sendo que este, por ser marcado com  $^{131}\text{I}$ , acarreta maior dose ao paciente. O MAG3- $^{99m}\text{Tc}$  permite obter uma imagem de melhor qualidade, além de ter a vantagem de poder ser administrado em dose menor, portanto apresentando maior aplicação em crianças. Existem algumas formulações do RL de MAG3 no mercado mundial, a saber, americana, europeia, cubana, entre outras, mas esse radiofármaco ainda não é produzido nacionalmente. O objetivo desse trabalho é estabelecer uma formulação IPEN do RL de MAG3, para a comercialização no mercado brasileiro. O IPEN já estabeleceu a formulação do RL, e os estudos com animais, bem como os estudos de estabilidade, já se encontram concluídos. Seu método de preparação envolve a reconstituição do RL de MAG3 com  $^{99m}\text{Tc}$  e aquecimento durante 10 minutos em temperatura de 100 °C. Entretanto, atualmente, a inserção comercial de novos radiofármacos obedece a uma série de requisitos de regulação estabelecidos para radiofármacos e fármacos. Assim, ainda dentro do projeto, pretende-se realizar alguns ensaios não clínicos, a saber, estudo de novos sistemas cromatográficos por cromatografia em camada delgada, cromatografia em papel, cromatografia a líquido e estudo de degradação.

## 12. Produção e desenvolvimento de moléculas marcadas com $^{18}\text{F}$ para diagnóstico de câncer de mama e próstata

O objetivo principal é desenvolver de forma inédita no mundo a síntese e caracterização da melatonina radiomarcada com  $^{18}\text{F}$ , a fim de servir como radiofármaco para o diagnóstico de câncer de mama. Além disso, pretende-se realizar os estudos pré-clínicos e toxicológicos *in vivo*

para os radiofármacos  $^{18}\text{F}$ -Colina e  $^{18}\text{F}$ -FLT, utilizados para diagnóstico de câncer de próstata e de mama.

Na última década, o diagnóstico não invasivo e a medição de processos celulares e moleculares em pacientes com câncer por imagem PET associado à tomografia computadorizada (PET/CT) têm permitido uma melhora considerável na terapia contra o câncer. Portanto, cada vez mais estudos para o desenvolvimento de novos métodos de diagnóstico específicos mais rápidos e eficientes são prioritários para o país. Há pouco, o IPEN iniciou a produção de  $^{18}\text{F}$ -Colina e  $^{18}\text{F}$ -FLT, dois radiofármacos amplamente utilizados no exterior para o diagnóstico de câncer da próstata e mama. Dessa forma, e com o objetivo de implementar o uso destes no Brasil, nosso primeiro grande objetivo é realizar os testes pré-clínicos para o registro desses radiofármacos de acordo com a legislação brasileira vigente.

Além disso, é de grande interesse desenvolver radiofármacos que reconheçam receptores que se encontram superexpressos em câncer. Nesse contexto, a melatonina tem surgido como uma possível molécula a ser investigada como radiofármaco para o diagnóstico de câncer de mama. De fato, a melatonina demonstrou ação antitumoral *in vitro* e apresentou uma ligação específica em células tumorais de mama que expressam o receptor de estrógeno. Dessa forma, e com a finalidade de desenvolver radiofármacos inéditos no Brasil e no mundo, o segundo objetivo está na síntese e caracterização da  $^{18}\text{F}$ -fluoroetil melatonina como ferramenta para o diagnóstico de câncer de mama por imagem PET. Esse projeto visa, portanto, potencializar e implementar, no Brasil, o uso de radiofármacos já existentes na medicina nuclear. Há uma colaboração com o Instituto de Química da USP nesse projeto.

13. Custo-efetividade de PET/CT com  $^{68}\text{Ga}$ -PSMA em pacientes com recorrência bioquímica de câncer de próstata pós-terapia radical

O objetivo geral dessa pesquisa é avaliar o custo-efetividade do procedimento de PET/CT com  $^{68}\text{Ga}$ -PSMA em pacientes com recorrência

bioquímica de câncer de próstata após terapia radical. Os objetivos específicos são: o desenvolvimento da árvore de decisão, considerando os possíveis desfechos para o procedimento proposto e a conduta padrão; as estimativas de sensibilidade, especificidade, acurácia, valor preditivo positivo, valor positivo negativo e o levantamento de custos diretos locais associados a cada abordagem.

Esse estudo é realizado em conjunto com o Departamento de Medicina Nuclear e PET/CT da Universidade de Bologna (UNIBO), na Itália. Trata-se de um centro de renome internacional graças às pesquisas realizadas nos campos da medicina nuclear clínica, de radiofarmácia e de física médica. Será feito um estudo retrospectivo de custo-efetividade de procedimentos de PET/CT com  $^{68}\text{Ga}$ -PSMA de pacientes com diagnóstico de câncer de próstata tratados por radioterapia e/ou cirurgia radical e com recorrência bioquímica. Trata-se de um procedimento que se tem demonstrado capaz de diferenciar entre uma recorrência inicial ou loco-regional e uma recorrência sistêmica, tratável apenas de forma paliativa, impactando toda a cadeia terapêutica posterior ao conhecimento da recorrência. A comparação será feita com a conduta usual que considera o acompanhamento clínico, PSA, imagens de tomografia por raios X, ressonância magnética nuclear e/ou ultrassom pós-terapia. Serão considerados os custos diretos envolvidos em todo o processo de seguimento do paciente. Os valores preditivos positivos e negativos serão usados como indicadores clínicos para o cálculo do custo-efetividade.

#### 14. Melhoramentos em protocolos de medicina nuclear e no desenvolvimento de novos radiofármacos

O grande desafio desse estudo é harmonizar as normas brasileiras e internacionais em protocolos de medicina nuclear, considerando duas situações distintas: (1) radiofármacos já adotados na rotina clínica no exterior e (2) moléculas inéditas. Para cumprir o regulamento, os recursos humanos precisam ser fortalecidos para estabelecer e conduzir testes específicos pré-clínicos *in vitro* e *in vivo*, bem como em protocolos

de aquisição e análise de quantificação de aplicações clínicas de novos radiofármacos.

O IPEN, o CRCN-NE e o CDTN, três Institutos da CNEN e a PUC-RS são as principais instituições que estão trabalhando em P&D de novos radiofármacos e, junto com o Instituto de Física da USP (IFUSP), desenvolverão novos compostos, seu controle de qualidade e estudos pré-clínicos. A Universidade Federal Fluminense (UFF) desenvolverá material de treinamento, em português, para auditoria de qualidade orientada ao paciente e estabelecerá um programa de capacitação para equipes de auditoria. Além disso, a Sociedade Brasileira de Medicina Nuclear (SBMN) desenvolverá um programa de treinamento para técnicos na área; trata-se de um dos quesitos identificados para melhorar a qualidade e a quantidade de serviços de medicina nuclear. A CNEN e a ANVISA participarão de eventos conjuntos para discutir a regulamentação e compartilhar experiências e conhecimentos na expectativa do desenvolvimento de uma regulamentação mais abrangente. As partes interessadas fornecerão o apoio político e serão os fóruns de discussão.

#### 15. Novas aplicações do radiofármaco Ubiquidina<sub>21-49</sub> no diagnóstico por imagem SPECT/PET/CT de doenças negligenciadas

Para a aprovação de um radiofármaco na clínica, é essencial que se estabeleça seu mecanismo de ação e os possíveis efeitos que sua administração pode causar ao paciente. Esses ensaios fazem parte dos estudos pré-clínicos obrigatórios, de acordo com a RDC-64/2009 da ANVISA, como pré-requisito para a condução de estudos clínicos com novos radiofármacos. Dessa forma, o objetivo principal é realizar os testes pré-clínicos com a UBI<sub>29-41</sub> radiomarcada não só com <sup>99m</sup>Tc, para seu uso em SPECT, mas também com <sup>68</sup>Ga (PET), para o diagnóstico de doenças negligenciadas como o Mal de Chagas.

Na última década, diversos esforços foram dedicados ao desenvolvimento de novos produtos radiofarmacêuticos para a detecção de infecções por patógenos e sua diferenciação de inflamações estéreis.

A Ubiquidina (UBI<sub>29-41</sub>) é um peptídeo antimicrobiano catiônico sintético que se liga preferencialmente à membrana celular bacteriana no local da infecção e tem demonstrado um grande potencial para o diagnóstico de infecções. Atualmente, o IPEN estabeleceu um protocolo de radiomarcção e controle de qualidade do fragmento de UBI<sub>29-41</sub> com <sup>99m</sup>Tc, com o objetivo de comercializar uma formulação liofilizada para diagnóstico de focos de infecção por bactérias.

Apesar do reconhecimento da UBI<sub>29-41</sub> radiomarcada na detecção de infecções bacterianas e fúngicas, seu uso na detecção de infecções parasitárias ainda não foi estudado. Os dados preliminares e inéditos demonstraram que a UBI<sub>29-41</sub> radiomarcada com <sup>99m</sup>Tc é capaz de ligar *in vitro* ao parasita *Trypanosoma cruzi*, responsável pela doença de Chagas. Essa doença parasitária apresenta elevada morbidade na América Latina. Até o momento, não existe vacina para ela, e as estratégias de tratamento e abordagens diagnósticas não são totalmente eficientes para enfrentar essa infecção parasitária. Nesse contexto, o objetivo principal é expandir o uso da UBI<sub>29-41</sub> para o diagnóstico por imagem de doenças negligenciadas, de grande relevância no contexto nacional.

A análise não invasiva de todo o corpo com a tecnologia de imagem por SPECT/PET/CT específica para patógenos pode melhorar significativamente a qualidade de vida dos pacientes, identificando rapidamente uma fonte de infecção e monitorando a resposta ao tratamento. Assim, esse projeto visa implementar uma tecnologia que não existe clinicamente no Brasil. A parceria é com a Leiden University Medical School, da Holanda.

#### 16. Seleção e radiomarcção de aptâmeros para fins teranósticos em câncer

Durante décadas, o tratamento para o câncer tem-se baseado na quimioterapia citotóxica intravenosa. Essas drogas possuem como alvo células em divisão, que incluem tanto as células tumorais como tecidos normais. Como resultado, muitos pacientes sofrem com a citotoxicidade

associada. Na última década, aumentaram os esforços em pesquisa, objetivando a criação de terapias alternativas com alvos mais específicos, procurando diminuir os efeitos colaterais associados à quimioterapia convencional e, acima de tudo, buscando eficiência na erradicação do tumor. Já se encontra bem estabelecido que a via de sinalização *Notch*, em particular a via *Notch* induzida por *JAG1*, exerce um papel importante na biologia tumoral, afetando tanto as células tumorais como as células do microambiente tumoral (vasculatura e células imunes), e o *JAG1* encontra-se frequentemente superexpresso em células tumorais (e em geral não mutado). Dados previamente obtidos pelo IPEN demonstram que a superexpressão de *JAG1* em células tumorais aumenta significativamente a taxa de crescimento do tumor *in vivo* em comparação com tumores controle. Esses tumores, por expressarem *JAG1*, possuem a via de sinalização *JAG1/Notch* ativada e maior número de vasos sanguíneos.

Diversas estratégias têm sido estudadas hoje em dia para inibir a via de sinalização *Notch*, incluindo a inibição da via *Notch* por pequenas moléculas inibidoras do complexo  $\gamma$ -secretase, RNA de interferência ou fragmentos do receptor *Notch* que sequestram os ligantes DLLA ou Jagged1, *Notch decoys*. No entanto, a aplicação desses inibidores na clínica ainda está longe de ser uma realidade. Diversos desafios têm sido enfrentados por causa dos efeitos adversos nos intestinos encontrados após a inibição da via *Notch*. Dessa forma, pelo fato de o *JAG1* atuar na biologia tumoral afetando tanto as células tumorais como o microambiente tumoral (vasculatura e células imunes), o bloqueio de *JAG1* representa uma opção atraente para o tratamento de tumores.

Portanto, nesse projeto, propõe-se desenvolver pela primeira vez um radiofármaco (aptâmero) para o ligante *JAG1*. A seleção de um aptâmero ligante de *JAG1* não só tem como finalidade o diagnóstico por SPECT/CT de tumores que expressam *JAG1* como pode vir a ser uma alternativa terapêutica no combate ao câncer. Isso significa que o aptâmero possui potencial para ser radiomarcado tanto com um radionuclídeo para diagnóstico (p. ex.,  $^{99m}\text{Tc}$ ) quanto com um radionuclídeo terapêutico (p. ex.,

<sup>177</sup>Lu). Além do mais, pretende-se avaliar se o próprio aptâmero poderá ser, por si só, um inibidor do ligante *JAG1*.

Espera-se que a inibição de *JAG1* pelos aptâmeros possa representar uma nova ferramenta para a inibição da via *Notch in vivo* com redução do crescimento tumoral de células que expressam *JAG1*.

### 17. Fabricação de alvos para produção de <sup>99</sup>Mo por fissão nuclear

Os principais objetivos desse projeto estratégico são o desenvolvimento e a implantação de processos de fabricação de alvos com especificação do Reator Multipropósito Brasileiro (RMB) para produção de <sup>99</sup>Mo por fissão nuclear no Brasil (Figura 8).

8 Moldura com múltiplas cavidades, onde são alojados os núcleos de alvos de alumineto de urânio disperso em matriz de alumínio (UAl<sub>x</sub>-Al), para produção de <sup>99</sup>Mo. Crédito: Giovanni Conturbia.



O  $^{99m}\text{Tc}$ , gerado a partir do decaimento do  $^{99}\text{Mo}$ , é o radionuclídeo mais conveniente para a execução de procedimentos de tomografia computadorizada por emissão de fóton único, devido a sua emissão gama bem característica e de fácil detecção, aliada a sua meia-vida de 6 h, muito apropriada para a realização de exames diagnósticos. O  $^{99}\text{Mo}$  é obtido por meio da fissão do  $^{235}\text{U}$ , sendo separado quimicamente dos produtos de fissão restantes. A escassez global de radioisótopos medicinais tem gerado crises no fornecimento de  $^{99}\text{Mo}$  que afetam profundamente a distribuição de geradores  $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$  no Brasil, o que incentivou o lançamento do Empreendimento RMB - Reator Multipropósito Brasileiro. Dois tipos de alvos têm sido considerados para a produção rotineira de  $^{99}\text{Mo}$ , ambos usando urânio de baixo enriquecimento (LEU). Um deles é à base da dispersão  $\text{UAl}_x\text{-Al}$ , e o outro, à base de folhas finas de urânio metálico. O objetivo do presente projeto é, em apoio ao Empreendimento RMB, desenvolver no Brasil a tecnologia de fabricação de ambos os tipos de alvo, com ênfase no alvo à base de folha fina de urânio metálico. Essa rota foi recentemente demonstrada na Indonésia e nos Estados Unidos e substituiu, com grandes vantagens, a tecnologia de alvos de dispersão.

Em 2008, a demanda de mercado no Brasil para o par  $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$  foi de 500 Ci/semana e 40 Ci/semana em  $^{131}\text{I}$ , cobrindo cerca de 2 milhões de procedimentos médicos no ano. O radioisótopo  $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$  é usado em radiodiagnóstico, e o isótopo  $^{131}\text{I}$  é empregado no diagnóstico de câncer de tireoide. Essa demanda é crescente para tais radionuclídeos na medicina nuclear. De 2000 a 2008, a demanda brasileira cresceu 50% e, presentemente, atinge 20 mil Ci/ano em  $^{99}\text{Mo}$  e 2 mil Ci/ano em  $^{131}\text{I}$ . Ambos os radioisótopos são produzidos a partir de alvos de urânio enriquecido irradiados em reatores de pesquisa. Para produzir uma atividade de 5 mil mCi em  $^{99}\text{Mo}$ , são necessários cerca de 10 alvos com 1,4 g de  $^{235}\text{U}$  HEU (*High Enriched Uranium* - 93% de  $^{235}\text{U}$ ), ou cerca de 7-8 g em  $^{235}\text{U}$  LEU (*Low Enriched Uranium* < 20% de  $^{235}\text{U}$ ).

O processo de confecção de alvos para irradiação é feito através de placas laminadas contendo a liga  $\text{UAl}_x$  dispersa em alumínio no núcleo

da placa. O material nuclear é conformado em um briquete compactado da liga U-Al dispersa em alumínio. Esse briquete é encapsulado entre as placas na forma de sanduíche. O conjunto de placas, uma vez soldado, é laminado para uma espessura de 1,52 mm e blinda o material radioativo para que este não tenha contato com o exterior. Todo esse conjunto, após a irradiação, deve ser dissolvido para a separação dos radioisótopos. Uma alternativa à tecnologia de dispersão é a utilização de alvos baseados em folhas finas de urânio metálico. Nesse caso, o urânio metálico é reduzido com magnésio metálico a partir do  $UF_4$ , é refundido em forno de indução e lingotado na forma de tabletes. Estes são encapsulados em aço, e todo o conjunto é laminado a quente e a frio para a obtenção de folhas finas, as quais são desmontadas. A folha fina é desencapsulada, obtendo-se espessuras na faixa de 125  $\mu m$ . Os alvos de folha fina de urânio metálico apresentam diversas vantagens importantes em comparação com os alvos à base da dispersão  $UAl_x-Al$  comumente usados para a fabricação de  $^{99}Mo$  por fissão nuclear. Eles já estão sendo produzidos comercialmente pela Indonésia, cerca de 45 Ci/semana, e esse país abastece seu mercado interno e distribui para Malásia (5 a 10 Ci/semana), Japão (20 Ci/semana), Bangladesh (5 Ci/semana) e Vietnã (5 Ci/2 semanas).

O presente projeto visa obter sucesso com a fabricação de ambos os tipos de alvos de irradiação. Deve-se ressaltar que os alvos serão imprescindíveis para a produção de  $^{99}Mo$  pelo futuro Reator Multipropósito Brasileiro (RMB), destinado quase que exclusivamente à produção de radioisótopos.

#### 18. Obtenção de $^{99}Mo$ por fissão de alvos de urânio

O presente projeto tem como objetivo dar continuidade ao desenvolvimento da tecnologia de fabricação de ambos os alvos de urânio ( $UAl_x$  e U folha fina) com o desenvolvimento do processo de purificação do  $^{99}Mo$  e  $^{131}I$  provenientes da dissolução dos alvos de  $^{235}U$  irradiados, além de estudar e avaliar as emissões de gases radioativos, provenientes de

instalações de processamento de radioisótopos para medicina. O objetivo é elaborar estratégias para a redução dessas emissões em níveis que não influenciem a sensibilidade do sistema internacional de monitoramento. Esse projeto é vital para a nacionalização da produção de  $^{99}\text{Mo}$  no Brasil, vinculado à construção do Reator Multipropósito Brasileiro (RMB).

O processo de purificação do  $^{99}\text{Mo}$  desse estudo consistirá na precipitação de Mo com reagentes seletivos. Visando obter a maior eficiência de precipitação de Mo com menor teor de contaminação, serão estudadas as seguintes variáveis: relação molar Mo/reagente de precipitação, temperatura de precipitação, agitação da solução de precipitação, velocidade e ordem de adição dos reagentes, tempo de formação do precipitado, meios de filtração e velocidade e temperatura de filtração. A interferência dos contaminantes radioativos ou não de I, Zr, Ru, Rh e Te será também avaliada pela metodologia de uso de traçadores radioativos ou por métodos químicos analíticos, como o uso do ICP-massa. A redução da emissão de xenônio das instalações de produção de radioisótopos depende do sistema de aprisionamento de gases da instalação. Em adição ao xenônio, o aprisionamento de iodo deve ser incorporado devido ao decaimento do  $^{133}\text{I}$  e do  $^{131}\text{I}$  para  $^{133}\text{Xe}$  e  $^{131m}\text{Xe}$ . Portanto, uma combinação de técnicas provavelmente será necessária para a eficiente redução das emissões de xenônio.

No método tradicional de produção de  $^{99}\text{Mo}$ , por meio da fissão do  $^{235}\text{U}$ , a maioria dos gases, incluindo xenônio e iodo, é liberada durante o processo de dissolução do alvo. Embora significativa, a dissolução não é a única fonte de emissão de xenônio, logo todo o sistema de processamento da instalação deve ser analisado para determinar pontos potenciais de liberação de xenônio e iodo.


#### Referências bibliográficas deste capítulo

1. MORDOR INTELLIGENCE. Nuclear imaging market: growth, trends and forecasts (2019-2024). Hyderabad, India: 2019. (Relatório comercial) Disponível em: <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/global-nuclear-imaging-market-industry>. Acesso em: 30 jan. 2019.

2. CAMERON, R.; LOKHOV, A. Y.; WESTMACOTT, C. The supply of medical radioisotopes: an assessment of the market economics, alternative technologies and proposed policy approach to achieving sustainability. *In: International Topical Meeting on Research Reactor Fuel Management*, 15th, March 20-24, 2011, Rome, Italy. Brussels: European Nuclear Society, 2011. (RRFM 2011) Disponível em: <https://www.euronuclear.org/meetings/rrfm2011/transactions/RRFM2011-transactions.pdf>. Acesso em: 22 jan. 2019.
3. AMARAL, F. Crise financeira pode impactar produção de radiofármacos no país. *Atividades Nucleares, Newsletter*, ano 8, n. 93, jan. 2017. Disponível em: [http://www.ien.gov.br/images/phocagallery/arq\\_noticia/abdan\\_jan\\_2017\\_1.pdf](http://www.ien.gov.br/images/phocagallery/arq_noticia/abdan_jan_2017_1.pdf).
4. INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES. Portal do cliente: catálogo de produtos e serviços. São Paulo: IPEN/SP, 2019. Disponível em: [https://www.ipen.br/portal\\_por/conteudo/institucional/arquivos/ipen-produtos\\_servicos\\_comercializados.pdf](https://www.ipen.br/portal_por/conteudo/institucional/arquivos/ipen-produtos_servicos_comercializados.pdf). Acesso em: fev. 2019.

# Biotechnologia



 IPEN realiza estudos na área de biotecnologia, um espaço criado em 1962, e, desde então, tem contribuído com pesquisas relacionadas às áreas biológicas e médicas, possuindo grande tradição em pesquisa e desenvolvimento, assim como na formação de recursos humanos altamente especializados. O Instituto atua na área de biotecnologia e saúde, produzindo conhecimento científico e desenvolvimento tecnológico, contribuindo com a melhoria da qualidade de vida da população brasileira. Esse assunto no IPEN subdivide-se em dois grupos: o de biofármacos derivados de toxinas animais e o de hormônios hipofisários, dispondo ainda de um biotério para criação e manutenção de animais de laboratório (Figura 9). A Comissão Interna de Biossegurança (CiBio) do Instituto e a Comissão de Ética no Uso de Animais (Ceuaipen) estão sob a coordenação dessa área do Instituto.

Um marco importante para esse grupo ocorreu em 1970, com a visita da Dra. Rosalyn Yalow (Prêmio Nobel de Medicina de 1977), que ministrou um curso sobre radioimunoensaio. A partir de então, o desenvolvimento de pesquisas de ponta envolvendo essa tecnologia na área de endocrinologia foi uma consequência, com ênfase no estudo dos hormônios hipofisários. Devido a sua grande sensibilidade, os radioimunoensaios têm contribuído sobremaneira para o conhecimento dos mecanismos de liberação hormonal, da fisiologia e patologia endócrinas e para a caracterização de novas formas hormonais, tais como antígenos tumorais, drogas, agentes antimicrobianos e antivirais, vitaminas, enzimas, proteínas séricas e outras de suma importância no diagnóstico clínico.

O estudo dos efeitos biológicos das radiações, em nível molecular, começou no início da década de 1970. Os venenos animais, em



9 O IPEN mantém um biotério para criação e manutenção de animais de laboratório direcionado a pesquisas científicas. Crédito: Marcello Vitorino/ Fullpress.

especial os de serpentes brasileiras, têm sido desde então os principais modelos utilizados nesses estudos. A irradiação de venenos permitiu obter avanços nos processos de imunização e produção de antissoros. Paralelamente, os venenos permitiram o desenvolvimento de técnicas de purificação e caracterização bioquímica e toxicológica de peptídeos e proteínas, assim como mostraram ser ferramentas úteis no estudo de diversos sistemas fisiológicos, quando associados aos radiotraçadores.

No início da década de 1980, foi desenvolvido o ensaio de dosimetria biológica no recém-instalado laboratório de cultura celular. O estudo foi ampliado na década seguinte para permitir novas abordagens nas pesquisas com cromossomos humanos e no desenvolvimento de testes de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade.

A área dos efeitos biológicos da radiação sobre proteínas também evoluiu de maneira pioneira, de início estudando a ação em enzimas e, subsequentemente, em toxinas, como os venenos ofídicos, criando uma massa crítica que permitiu o aprimoramento da produção de antissoros para o controle de acidentes ofídicos. O desenvolvimento permitiu estudar os efeitos da radiação sobre as propriedades imunológicas de proteínas visando à produção de imunógenos mais potentes, à descoberta e à elucidação dos mecanismos de ação de radicais específicos dos vários tipos de radiação estudados, permitindo a modelagem química de eventuais protetores ou potenciadores, de forma a aperfeiçoar sua utilização. Em decorrência dessas análises houve a descoberta dos receptores celulares envolvidos na captação de proteínas irradiadas e sua biodistribuição, seguida da cinética das toxinas candidatas a futuros fármacos, usando marcação com radioisótopos.

Outra abordagem incrementada foi o estudo dos efeitos dos vários tipos de radiação sobre células e seus ácidos nucleicos, com aplicação na dosimetria biológica e na determinação de efeitos citotóxicos e genotóxicos, por meio de técnicas citogenéticas, com detecção de efeito mutagênico precoce de novos fármacos ou radiações. Esses estudos, feitos com técnicas de detecção de mutações no genoma, têm repercussões até mesmo em mecanismos de carcinogênese e outros fenômenos celulares decorrentes da exposição às radiações.

Com os desdobramentos dos conhecimentos adquiridos pelo IPEN no decorrer de sua história, ficou concretizado seu envolvimento na área biotecnológica, colaborando para a aquisição de ampla experiência no campo da síntese, purificação, caracterização e produção de hormônios recombinantes inicialmente, conhecimento esse que se expandiu e passou a ser aplicado para diversas outras proteínas obtidas em bactérias e/ou em células de mamífero. Outras atividades de ponta desenvolvidas por diferentes pesquisadores do IPEN em biotecnologia estão ligadas aos modelos animais de terapia gênica e à busca de novos fármacos a partir das pesquisas de novas moléculas existentes na natureza ou síntese de novas proteínas de interesse clínico e terapêutico.

O IPEN possui um biotério, que atende a toda a comunidade USP, bem como a qualquer demandante no país. Nesse biotério são criados e mantidos animais, principalmente roedores (camundongos de diferentes linhagens e ratos), utilizados para estudo laboratorial. Foi construído em uma área física de tamanho, condições e divisões adequadas, material devidamente esterilizado, entre outras exigências. Os animais precisam de alimentação específica, e é fundamental que haja temperatura controlada e iluminação artificial apropriada.

No caso do IPEN, o biotério tem como foco as pesquisas desenvolvidas no próprio Instituto, a maioria delas buscando novos fármacos e radiofármacos, constituindo importante ferramenta para as pesquisas. Sua função é a de fornecer animais com qualidade genética e sanitária controlada para os testes de radiofármacos e as pesquisas. Recentemente, obteve credenciamento definitivo pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI).

Portanto, atualmente, os principais temas/atividades na grande área em biotecnologia do IPEN são: síntese em células e bactérias de hormônios e proteínas recombinantes; terapia gênica; síntese de sistemas poliméricos biofuncionais e avaliação de biocompatibilidade; estudo de venenos e toxinas para identificação de novos biofármacos e criação e manutenção de animais de laboratório utilizados na pesquisa biomédica.

Essas atividades podem ser subdivididas em dezesseis linhas de pesquisas relevantes, descritas a seguir.

1. Desenvolvimento de cultivos celulares tridimensionais para testes de radiofármacos produzidos no IPEN

O objetivo principal resume-se ao desenvolvimento de uma metodologia e de insumos para a realização de cultivo celular tridimensional por levitação magnética.

Cultivos celulares tridimensionais vêm substituindo os cultivos tradicionais em monocamada por sua capacidade de reproduzir a fisiologia tecidual mesmo *in vitro*. Dessa forma, possui grande potencial para aumentar a similaridade dos sistemas-teste com as situações fisiológicas reais e substituir em certa medida os modelos *in vivo*. Entre os sistemas existentes, os baseados em levitação magnética trazem a vantagem de manter os esferoides na interface ar-líquido, o que garante gradientes de concentração de gases e nutrientes similares aos encontrados no organismo, a falta de *scaffolds*, que, embora bem tolerados pelas culturas, podem limitar os espaços de interação célula-célula e o baixo custo. Esses sistemas são produzidos mediante a adsorção ou a incorporação de nanopartículas paramagnéticas pelas células. Para tanto, além da constituição por óxidos de ferro responsivos a campos magnéticos, as nanopartículas devem ser devidamente funcionalizadas para as interações desejadas com as células. Nesse projeto são desenvolvidas nanopartículas de óxidos de ferro cuja associação a aminoácidos adsorvidos promove a adesão em células em cultivo. Assim, mediante a exposição a campos magnéticos, as células organizam-se em esferoides, com produção própria de matriz extracelular, e que podem assim ser sistemas-teste de alta fidelidade.

O cultivo *in vitro* de células tumorais fornece a configuração biológica mínima necessária para o estudo da fisiologia dos tumores. A capacidade que linhagens tumorais possuem de, mediante o fornecimento adequado de nutrientes e gases, reproduzir-se em recipientes é utilizada para obter esses sistemas-teste em quantidades suficientes para estudos pré-clínicos de diversas moléculas, com o intuito de observar atividade antitumoral.

Os protocolos usuais baseiam-se no denominado cultivo em monocamada, onde as células se reproduzem aderidas em superfícies de vidro ou plástico, dispendo-se lateralmente umas às outras. No decorrer de alguns dias, as células cobrem a superfície de cultivo, formando uma estrutura que lembra um "tapete".

Apesar da utilização em larga escala, há cerca de cinquenta anos já existe consistente evidência científica de que a disposição bidimensional impede que as células tumorais expressem suas características de forma análoga à encontrada no organismo. Para que tais linhagens se comportem de maneira mais próxima àquelas observadas diretamente *in vivo*, é necessária a interação tridimensional entre células. Dessa forma, fica favorecida a produção e certo nível de encapsulamento e interação com as proteínas da matriz extracelular.

De muitas formas, a literatura recente vem descrevendo os modelos bidimensionais como compostos por complexidade insuficiente. Nesses cultivos, o nível de interação célula-célula, meramente lateral, impede que seja formado um nicho que simule a distribuição espacial natural dos tumores. Por sua vez, a disposição das células de maneira tridimensional em determinado agrupamento tecidual forma uma dispersão de forças mecânicas que se relacionam com sua morfogênese. Em outros termos, pode-se considerar que o comportamento fisiológico de um agrupamento celular é resultante não só do tipo celular em questão, mas também da organização espacial dessas células, da distribuição das zonas de comunicação existentes em suas superfícies. Além disso, o estresse mecânico oriundo do agrupamento celular parece conferir funções fisiológicas muito próximas das apresentadas pelos tumores *in vivo*. Esse desenvolvimento ocorre em colaboração com a UFABC.

2. Avaliação automatizada e em alta demanda (*high-throughput*) da genotoxicidade de radiofármacos produzidos no IPEN

Essa linha de pesquisa visa adaptar a metodologia de análise de genotoxicidade (frequência de micronúcleos) por citometria de fluxo.

O ensaio de frequência de micronúcleos é uma importante técnica utilizada para avaliar dano genotóxico de agentes químicos ou físicos, como radiações ionizantes, nas células, com base na quantificação de células portadoras de micronúcleos, que são fragmentos derivados de danos (quebra) do DNA com coloração semelhante à dos núcleos

principais, mas com 5 a 30% de seu tamanho. Tradicionalmente, esse ensaio é realizado usando microscopia por coloração convencional com Giemsa ou com corantes fluorescentes que permite a contagem manual de células binucleadas com micronúcleos. Apesar de sua facilidade de execução, consome tempo e pode enfrentar certos desafios operacionais. Essa técnica está sendo atualizada para uma abordagem automatizada, que se baseia na dissolução da membrana plasmática por detergentes e leva em conta apenas núcleos e micronúcleos com seu DNA corado por corantes fluorescentes, que podem até discriminar células mortas ou vivas, e permite a contagem por citometria de fluxo. O trabalho usa uma cepa de células não tumorais de ovário de hamster chinês (CHO-KI), que é uma linhagem padrão para testes de genotoxicidade.

Anteriormente à sua comercialização, compostos como fármacos, aditivos alimentares, tóxicos agrícolas ou seus componentes devem ter sua eficácia e segurança comprovadas. São previstos ensaios com metodologias que comprovem que a molécula em teste não produza risco potencial (toxicidade), seja ela direta e observável *in vitro* ou *in vivo*, seja sob a forma de dano genético propagável hereditariamente ou indutor de risco de oncogênese. Uma hipótese a ser estudada é aquela que leva em consideração a possibilidade de que certa substância-teste, em uma ou mais concentrações, possa desencadear determinada proporção de mortalidade celular. A citotoxicidade, ou toxicidade celular, deve ser avaliada preliminarmente em relação a outros experimentos. Referindo-se à toxicidade genética, são considerados os testes de genotoxicidade, cuja função é avaliar a presença ou a ausência de quebras provocadas direta ou indiretamente nas fitas de DNA (clastogênese) em células de linhagens já estabelecidas para tanto, em culturas padronizadas. Além disso, os ensaios de genotoxicidade podem avaliar se determinado composto-teste possui a capacidade de inibir a proliferação celular (aneugênese). O teste de frequência de micronúcleos (FMN) *in vitro* é uma das metodologias de escolha no desenvolvimento de testes de segurança toxicológica. O aumento da proporção de células que apresentam micronúcleos bem como sua quantidade no citoplasma das

células analisadas são indicativos de dano genotóxico. Após análise, tal aumento pode relacionar a concentração utilizada da substância-teste a seu potencial genotóxico. Sendo uma técnica de microscopia, a análise da frequência de micronúcleos em dada amostra pode enfrentar certos desafios operacionais. Apesar de ter recebido diversas modificações ao longo dos anos, existe a necessidade de automatização da tecnologia para aplicação em larga escala. Alguns autores utilizam a citometria de fluxo para quantificar micronúcleos, que nesses casos são caracterizados como partículas com 1/10 a 1/100 da fluorescência dos núcleos principais. A pesquisa conta com a UNIFESP como parceira.

3. Desenvolvimento de protocolos de estudos clínicos, pré-clínicos e de biocompatibilidade para avaliação e registro de produtos para a saúde, fármacos e radiofármacos

Esse projeto aborda inovação no desenvolvimento e na validação de estudos não clínicos, pré-clínicos, baseados em modelos experimentais *in vitro*, biológicos e bioquímicos, para a avaliação de eficácia, segurança, PD&I e registro de radiofármacos e biomateriais, com o objetivo de cumprir exigências regulatórias nacionais e internacionais e posicionar competitivamente o IPEN no cenário interno e externo.

O Laboratório de Estudos Biológicos *in vitro* instalado no IPEN, em parceria de inovação tecnológica com a empresa Biosíntese, foi um dos pioneiros no país a ser reconhecido pelo INMETRO para estudos *in vitro* em condições Boas Práticas de Laboratório (BPL), no Brasil (BPL 043 INMETRO e BPL 123 ANVISA) – Figura 10. Esse pioneirismo é de fundamental importância no cenário brasileiro, uma vez que os estudos, desenvolvidos com esses requisitos de qualidade, só estavam disponíveis no exterior. Assim, o impacto de internalizar tais tecnologias por meio desse projeto de inovação a fim de qualificar a produção, pesquisa e desenvolvimento de radiofármacos produzidos pelo IPEN, assim como outros produtos para a saúde por meio de estudos pré-clínicos BPL, promoverá, a médio e longo prazos, inestimável diferencial competitivo para o país.



10 Estudos Biológicos *in vitro*: pioneirismo em condições de Boas Práticas de Laboratórios (BPL). Crédito: Laboratório Biosíntesis/Centro de Biotecnologia do IPEN.

Assim, além do atendimento às políticas públicas traçadas para a ciência e tecnologia e ao Plano Brasil Maior, a oportunidade e relevância desse projeto visa ao fortalecimento e ampliação dessas inovações e desenvolvimentos tecnológicos, que atendam às atividades de PD&I, registro e qualificação de produtos para a saúde. O objetivo é, igualmente, o desenvolvimento tecnológico de alto desempenho para esses produtos, nos quais o *know-how* e a *expertise* científica do IPEN e do INMETRO são referência no Brasil e no mundo, com a finalidade de obter certificações e registros dos ensaios junto ao INMETRO e à ANVISA, em âmbito nacional, assim como internacionalização posterior. Com isso, contribui-se para o controle de segurança desses produtos e, paralelamente, incrementa-se a capacidade de produção relativa no Brasil, tanto para o mercado nacional como para o internacional.

A importância desse desenvolvimento pode ser exemplificada com dados técnicos do próprio IPEN. Um dos principais objetivos do projeto institucional do Reator Multipropósito Brasileiro (RMB) refere-se à

autossuficiência na produção de radioisótopos destinados à preparação de radiofármacos para uso na medicina nuclear, em diagnósticos de imagem e demais procedimentos correlatos. Também é esperado que a produção nacional dos radioisótopos, atualmente importados, seja aplicada na indústria, na agricultura e no meio ambiente. Para todos esses segmentos, a qualificação não clínica dos radiofármacos e radioisótopos é requisito primordial junto à ANVISA e a órgãos regulatórios internacionais, devendo ser produzidos de acordo com as Boas Práticas de Fabricação (BPF) e qualificados de acordo com as Boas Práticas de Laboratório (BPL). A parceria com o INMETRO é fundamental nessa pesquisa.

4. Desenvolvimento de produtos e processos biotecnológicos aplicados à medicina regenerativa e engenharia de tecidos

Objetiva-se nesse projeto o desenvolvimento e a obtenção de dispositivos poliméricos implantáveis, reabsorvíveis e bioativos, capazes de induzir a regeneração óssea de forma controlada.

O setor de fabricação de produtos para a saúde tem grande relevância quando analisado sob o ponto de vista da política de saúde no país, das possibilidades de desenvolvimento tecnológico nacional e das perspectivas econômicas e de mercado. O desenvolvimento tecnológico e a inovação no setor de produtos médicos e biomateriais, para produtos considerados estratégicos, são fundamentais para as diretrizes de política industrial, tecnológica e de comércio exterior. Nos últimos trinta anos, o desenvolvimento de polímeros biodegradáveis que possam ser aplicados como materiais implantados recebeu atenção devido a seu potencial de aplicação nas cirurgias reparadoras. Tais materiais são atualmente utilizados na engenharia de tecidos biológicos para a obtenção de sistemas que induzam/promovam o crescimento de células ósseas (osteoadutores). Vários estudos experimentais com implantes/enxertos biodegradáveis têm sido publicados nos últimos anos e demonstram efetividade, uma vez que a melhor maneira de reparar um defeito ósseo é estimulando o próprio tecido ao autorreparo. Para que

ocorra uma substituição óssea ideal, a degradação deve ocorrer em um ritmo que permita a regeneração óssea e que possa formar um tecido com as propriedades mecânicas mais próximas do tecido original.

A natureza dessa tecnologia está no reparo de defeitos ósseos, utilizando dispositivos poliméricos bioativos, que venham a ser utilizados como matriz osteocondutora. No desenvolvimento desse projeto de inovação tecnológica, a equipe alcançou, entre 2006 e 2015, as competências para a síntese e o escalonamento da matéria-prima policaprolactona (PCL) como um biomaterial biocompatível e biorreabsorvível aplicado à engenharia de tecidos.

Assim, a partir desse *know-how*, aplicam-se no IPEN, desde 2015, duas tecnologias de ponta com a finalidade de obter produtos/processos de alto desempenho para a medicina regenerativa e a engenharia de tecidos, a saber: (1) obtenção e caracterização de membranas 3D porosas poliméricas constituídas de nanofibras eletrofiadas de PCL e (2) estudo de suas interações com células para a construção de suportes bioativos com a proteína morfogenética óssea humana (BMP-2) recombinante. A BMP-2 é um dos fatores de crescimento mais potentes que induzem a diferenciação de células-tronco em osteoblastos e desempenha um papel extremamente importante na regeneração tecidual em doenças ósseas. Nesse projeto foi realizada uma parceria com a Universidade Federal de Itajubá.

## 5. Biofármacos derivados de toxinas animais

Os objetivos principais dessa linha de pesquisa são isolar e caracterizar biomoléculas de venenos animais com potencial uso farmacológico e/ou biotecnológico.

As toxinas são conhecidas por serem muito seletivas e potentes mediadoras de diversos processos fisiológicos. Quando purificadas e utilizadas em concentrações apropriadas, essas moléculas podem se tornar fármacos. Apesar de existirem poucas drogas derivadas de venenos atualmente em uso na clínica, as perspectivas são muito encorajadoras. Com o uso cada vez mais difundido de técnicas proteômicas e transcriptômicas,

um número crescente de novas sequências proteicas e peptídicas vem sendo elucidado, aumentando assim o potencial para encontrar novas moléculas derivadas de veneno com aplicações em diagnóstico, terapêuticas, cosméticas e no controle de pragas. Esse projeto visa purificar, identificar e caracterizar moléculas bioativas do veneno da cascavel brasileira com efeito sobre células de tumor de mama para o desenvolvimento de um ligante radiomarcado para diagnóstico e/ou terapia. Em paralelo, pretende-se isolar, de uma fração onde tal atividade já foi mapeada, uma molécula com potente atividade analgésica do mesmo veneno.

Venenos animais são fontes riquíssimas de biomoléculas com um vasto leque de alvos farmacológicos, como a cascata da coagulação, o sistema nervoso e a pressão arterial. As toxinas que encerram essas atividades atuam nestes sistemas, seja bloqueando ou modulando suas funções. Assim, os venenos constituem uma fonte muito interessante de candidatos a drogas. Um exemplo de fármaco derivado de venenos animais é a droga anti-hipertensiva *Captopril*<sup>®</sup>, um fármaco sintético baseado em um peptídeo isolado do veneno de jararaca. Um estudo de 2010 aponta que existem cerca de 50 fármacos oriundos de venenos atualmente no mercado, para patologias como câncer, distúrbios da coagulação e dor crônica. Esse projeto tem por metas isolar e caracterizar toxinas com potencial uso como profármacos. Atualmente se estuda um candidato à droga para teranóstica de câncer de mama derivado do veneno de cascavel e uma molécula com potente ação analgésica oriunda do mesmo veneno. Há uma parceria com o Instituto Butantan para o desenvolvimento.

#### 6. Produção de proteínas com potencial para utilização em testes diagnósticos

Tem-se como objetivo nessa pesquisa estabelecer processos de renaturação de proteínas agregadas em corpos de inclusão com altos rendimentos para a produção das proteínas recombinantes NS1 e proteína de envelope dos vírus da dengue e da zika a serem utilizados em vacinas e em testes diagnósticos.

A dengue é a mais importante arbovirose que afeta o ser humano, constituindo sério problema de saúde pública no Brasil. Também em nosso país tivemos um surto importante de infecção pelo vírus da zika em 2016. Evidências cada vez mais contundentes indicam que infecções pelo vírus da zika estão ligadas à microcefalia fetal e de recém-nascidos, além de sérias complicações como a síndrome de Guillain-Barré.

Tanto para o caso da dengue quanto para o da zika, o diagnóstico é importante para tratamento e para ações em saúde pública. Existem dois tipos de testes diagnósticos para a detecção dos vírus da dengue e da zika: (1) os testes de PCR (*polymerase chain reaction*), que se baseiam na detecção do mRNA dos vírus no sangue do paciente durante o período de viremia (passado esse período, tal tipo de teste não é mais efetivo); (2) o teste Elisa, que se baseia na presença de anticorpos específicos para os flavivírus, que pode ser utilizado para o diagnóstico durante e após o período de viremia. O antígeno mais utilizado para a produção de testes Elisa para dengue e zika é o NS1. Estabelecer um processo de produção da proteína NS1 em células de inseto ou de mamífero infectadas pelos vírus da dengue e da zika e de purificação dessas proteínas seria extremamente caro e trabalhoso.

Proteínas biofuncionais de interesse para a indústria farmacêutica, com alto valor agregado, para diferentes áreas da ciência geralmente se encontram em baixos níveis em suas fontes nativas. Por isso existe a necessidade de produção eficiente dessas proteínas, utilizando um sistema alternativo. As bactérias *Escherichia coli* geneticamente modificadas, contendo vetores plasmídicos com genes que codificam para as proteínas heterólogas de interesse, são o sistema mais rápido, prático e barato para a produção de grandes quantidades de proteínas recombinantes. Entretanto, as proteínas recombinantes produzidas pelas bactérias *E. coli* frequentemente se acumulam como agregados no citoplasma. Nesses agregados proteicos insolúveis (denominados corpos de inclusão), as proteínas se apresentam sem estrutura e sem atividade, e por isso necessitam ser solubilizadas e tratadas em condições que possibilitem a formação da estrutura proteica nativa para se

tornarem biologicamente ativas, processo denominado renaturação e que deve ser padronizado caso a caso. Na grande maioria dos casos são encontradas dificuldades para a renaturação de proteínas com estrutura nativa e atividade biológica a partir de corpos de inclusão. Um processo eficiente de renaturação possibilita a obtenção de proteínas recombinantes bioativas com altos rendimentos, e que, além disso, apresentam baixos níveis de contaminação por proteínas das bactérias hospedeiras. Entretanto, deve-se estabelecer um processo de renaturação eficiente, que solubilize essas proteínas agregadas e possibilite seu enovelamento para o estado bioativo com altos rendimentos. Muito frequentemente são obtidos baixos rendimentos de proteínas bioativas quando se utilizam processos de renaturação em pressão atmosférica.

A pesquisa baseia-se na utilização de alta pressão para a solubilização das proteínas NS1 e proteína de envelope dos vírus da dengue e da zika e sua posterior renaturação. Foi desenvolvido um processo extremamente eficiente de renaturação das proteínas NS1 e de envelope dos vírus da dengue e da zika. O processo é inovador e se baseia na utilização concomitante de alta pressão e em pH alcalino.

O IPEN possui, desde 2007, o único grupo no Brasil que desenvolve pesquisas utilizando alta pressão para a obtenção de proteínas bioativas a partir de corpos de inclusão, agregados proteicos produzidos em bactérias geneticamente modificadas, um processo mais eficiente do que os métodos convencionais de renaturação em pressão atmosférica. Atualmente, há colaborações com vários grupos que trabalham em pesquisas de proteínas recombinantes a serem utilizadas como antígenos para a produção de vacinas.

#### 7. Estudo dos mecanismos moleculares responsáveis pela química e radiorresistência do adenocarcinoma renal humano

O objetivo principal dessa pesquisa é a identificação de genes-alvo associados à química e à radiorresistência do adenoma carcinoma renal humano.

O carcinoma de células renais (CCR) é o tumor maligno mais comum nos rins e, dentre os do trato geniturinário, o mais letal. Os subtipos histológicos mais frequentes do CCR são: carcinoma de células claras (CCRcc), papilífero (CCRp) e cromóforo (CCRcr). Esses três, em conjunto, representam mais de 90% de todos os CCRs. A incidência do CCR varia substancialmente no mundo, com taxas mais baixas na Ásia e na África e mais altas na América do Norte e na Europa. Recentemente, foi observada a estabilização ou a queda da incidência do CCR em alguns países do norte europeu, especificamente a Suécia. A incidência do CCR ocorre entre 70 e 75 anos de idade, e indivíduos do sexo masculino são mais afetados que do sexo feminino. Fatores como obesidade, tabagismo, hipertensão e alterações genéticas contribuem para o desenvolvimento da patologia.

O termo silenciamento gênico (SG) é usado para descrever a supressão da expressão de um gene nos níveis transcricional ou translacional. A SG é uma ferramenta poderosa para o entendimento da função genética de vias bioquímicas intracelulares. Vários métodos, tais como o siRNA (*small interfering RNA*), o shRNA (*short hairpin RNA*), o miRNA (micro-RNA) e o CRISPR/Cas9 (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*), vêm sendo aplicados para o SG. Na técnica CRISPR/Cas9, sequências de filamentos de RNA complementares ao DNA original são utilizadas para guiar a proteína Cas9 em direção às sequências-alvo que queremos modificar. A técnica CRISPR vem sendo aplicada para a avaliação do potencial de genes que podem atuar como alvos terapêuticos para o CCR.

O subtipo mais frequente de CCR é o de células claras (CCRcc). O CCRcc é químico e radiorresistente, tornando seu manejo terapêutico muito complexo. Várias moléculas têm sido apontadas como responsáveis pelo fenótipo agressivo do CCR. Nos últimos anos a técnica CRISPR/CAS-9 vem sendo aplicada para obtenção de uma linhagem celular de adenocarcinoma renal humano *knockout* para diversos genes e avaliação do fenótipo resultante. Tal técnica é uma ferramenta poderosa para a identificação de novos alvos moleculares para a terapia do CCR.

8. Neuroimunomodulação e suas aplicações no desenvolvimento de modelos tumorais para testes pré-clínicos de radiofármacos desenvolvidos pelo IPEN

Objetiva-se estabelecer no IPEN um modelo confiável de tumor de próstata em roedores, usando células LNCAP que têm receptores específicos PMSA, os quais se ligam com o radiofármaco  $^{177}\text{Lu}$ , já utilizado para o diagnóstico de câncer de próstata. Esse modelo poderá então ser utilizado pelo IPEN, que produz esse radiofármaco e o fornece para hospitais. Além disso, verificar-se-á se esse tumor interfere no comportamento de roedores sadios que convivem com um parceiro com tumor. Dessa forma, pode-se explicar, dentro de uma perspectiva neuroimune, as alterações produzidas pelo animal doente.

A imagem molecular evoluiu como uma ferramenta importante para diagnosticar e monitorar doenças. A imagem molecular está fazendo progressos firmes em pesquisas de câncer, doença desafiadora, caracterizada por heterogeneidade, divisão celular descontrolada e capacidade de invasão de outros tecidos. As pesquisas enfrentam esses desafios e utilizam biomarcadores específicos para câncer, como receptores de fator de crescimento, proteínas quinases, moléculas de adesão celular e proteases, bem como processos biológicos relacionados ao câncer.

Para estabelecer o modelo, serão analisados parâmetros físicos, bioquímicos, imunes, e, ainda, após caracterizar o modelo, verificar-se-á se esse tumor interfere no comportamento dos roedores que convivem com um parceiro. Especificamente, em uma primeira parte, um modelo de estudo de tumor será caracterizado, e então poderá ser utilizado para entender melhor o mecanismo de ação por meio do qual o paciente com o tumor e o indivíduo que convive com o parceiro doente modificam as respostas neuroimunes.

9. Expressão, purificação e caracterização do antagonista de prolactina humana em bactérias *Escherichia coli*

O objetivo desse projeto de pesquisa é obter a proteína antagonista de receptor de prolactina denominada delta 1-9 G129R-hPRL recombinante, cuja atividade antiproliferativa já foi verificada em vários tipos tumorais, como os de próstata, mama, pele e neuronais de camundongos, ratos e humanos. Esses tecidos apresentam receptores de prolactina, que se ligam à prolactina circulante e também produzem PRL localmente, denominados ação autócrina e parácrina. O uso de anticorpo antiprolactina reduz a prolactina circulante, mas não age sobre a produção local. Em tumores em que há superexpressão de receptores de prolactina, o uso do delta 1-9 G129R-hPRL poderá impedir a ligação da PRL aos receptores e ter ação antitumoral.

Entre os antagonistas de prolactina, esse é um dos mais promissores, pois, além da substituição da arginina (R) na posição 129 pela glicina (G), que impede a ligação da molécula ao segundo receptor de prolactina, exclui os primeiros 9 aminoácidos, anulando qualquer atividade proliferativa residual mesmo em concentrações 10 vezes maiores que a da prolactina circulante.

No caso dos hormônios hipofisários, o hormônio do crescimento (GH) e a prolactina (PRL) são expressos em bactérias *Escherichia coli*, já que não necessitam de glicosilação, ou seja, adição de glicanos na cadeia peptídica para que tenham atividade biológica. A produção é feita em bactérias transformadas com o plasmídeo contendo o cDNA da proteína delta 1-9 G129R-hPRL no periplasma bacteriano, em escala laboratorial, em erlenmeyers e em biorreator. A purificação em duas etapas cromatográficas segue o protocolo da prolactina humana (cromatografia por afinidade a metais e exclusão molecular). As condições como pH e gradiente de eluição serão ainda padronizadas, pois a alteração de aminoácidos da proteína poderá alterar as características físico-químicas. A caracterização será feita por meio de SDS-PAGE, HPLC, espectrometria de massas e ensaio biológico *in vitro* com células BaF/3-LLP.

10. Síntese e caracterização de hormônios hipofisários de *Arapaima gigas* (pirarucu)

O pirarucu (*Arapaima gigas*) é um dos maiores peixes de água doce do mundo, oriundo da bacia Amazônica, e representa uma fonte extremamente importante para a alimentação e a riqueza da região. Sua reprodução em cativeiro ainda não está estruturada, e um dos caminhos mais importantes para que essa tecnologia seja realizada com sucesso é o estudo e a aplicação de seus hormônios hipofisários da reprodução (ag-FSH e ag-LH) e de crescimento (ag-GH). A síntese, purificação, caracterização e aplicações desses hormônios (em colaboração com instituições capacitadas) representam os objetivos principais desse trabalho.

O IPEN já possui ampla experiência na síntese e na caracterização de hormônios hipofisários humanos e animais. No caso dos estudos ligados ao *A. gigas*, a experiência é relativamente recente, mas já produziu resultados interessantes sobre a síntese, purificação e caracterização dos hormônios da reprodução (gonadotrofinas: hormônio folículo estimulante, FSH e luteinizante, LH) dessa importante espécie de peixe. As gonadotrofinas são glicoproteínas constituídas por duas subunidades, uma subunidade alpha comum e uma subunidade beta diferente, que lhe confere a especificidade hormonal. Em trabalho anterior foi clonado e caracterizado, pela primeira vez, o gene da subunidade alpha das gonadotrofinas de *A. gigas*, chamada também ag-GTH-alpha, estudada sua sequência em comparação com aquela de outras espécies e construída uma nova árvore filogenética. Por isso foram utilizadas sequências de 40 espécies diferentes, fato que ajudou a localizar essa espécie (da ordem dos Osseoglossiformes e superordem dos Osteoglossomorpha) do ponto de vista evolutivo.

Em um segundo momento foram clonados e caracterizados os dois genes de ag-FSH-beta e ag-LH-beta, realizando também árvores filogenéticas mais completas e modelagens moleculares tridimensionais baseadas em simulações dinâmicas. A parte principal do trabalho, porém, foi

a síntese do mesmo hormônio (ag-FSH) recombinante, realizada em células humanas HEK293. O hormônio sintetizado foi também, de forma preliminar, identificado, purificado e caracterizado.

As etapas e os trabalhos seguintes serão dedicados à completa síntese, purificação e caracterização do ag-FSH, ag-LH e do hormônio de crescimento de pirarucu (ag-GH), todos os hormônios relacionados com a ação reprodutiva e o crescimento corporal dessa importante espécie de peixe. Para essa realização, há parcerias com o Centro Nacional de Pesquisa em Pesca, Aquicultura e Sistemas Agrícolas (CNPASA), EMBRAPA, o Estado de Tocantins e a Original Amazon Assessoria Empresarial, São Paulo.

#### 11. Expressão, purificação e caracterização da proteína morfogenética humana-2 para aplicação em biomateriais compósitos com o polímero Poli( $\epsilon$ -caprolactona)

O objetivo principal do presente projeto é a obtenção da proteína morfogenética humana tipo 2 (*human bone morphogenetic protein-hBMP-2*), em sua forma recombinante (rhBMP-2), biologicamente ativa, com alto grau de pureza, que seja qualitativamente comparável aos melhores produtos disponíveis no mercado internacional.

O projeto, cuja fase-1 foi completada já em 2017, prevê a síntese nacional e a caracterização da proteína morfogenética humana recombinante (rhBMP-2). Nessa fase, de acordo com o delineamento proposto para prova de conceito e viabilidade técnica, demonstrou-se pela primeira vez uma expressão periplásmica da BMP-2 em *Escherichia coli*, mediante testes preliminares de identidade, pureza e potência. Esta última, confirmada mediante ensaio biológico com células mioblásticas C2C12, mostrou tratar-se de um produto biologicamente ativo, com potência talvez > 90% em relação ao padrão de BMP-2 humana, produzida no citoplasma de *E. coli* e distribuída pela empresa GenScript. Os rendimentos aproximados foram da ordem de 1  $\mu\text{g/ml/A600}$ , o que permitiu uma primeira purificação e parcial caracterização dessa proteína.

Na fase 2 do projeto será realizado um estudo dirigido a um aumento significativo dos rendimentos da produção, cuja meta é a obtenção de biomassas da ordem de 30-60 A600 e de rendimentos de expressão de pelo menos 2-4  $\mu\text{g/ml/A600}$ . Serão utilizados diferentes vetores de expressão, diversas cepas bacterianas e, especialmente, condições de fermentação com parâmetros de biorreação altamente controlados em biorreator laboratorial de 20 litros e, possivelmente, industrial/piloto de 150 litros. Outra meta será também aperfeiçoar o procedimento de purificação com rendimentos de purificação da ordem de 40-60%, com pureza > 95%.

A empresa Biosíntesis, parceira no projeto, já detém plataforma tecnológica e propriedade intelectual para a obtenção e a preparação do polímero poli( $\mu$ -caprolactona) (PCL) e consequente obtenção de compósitos biologicamente ativos. Nessa mesma fase 2 serão, portanto, obtidos e testados compósitos formados por PCL e rhBMP-2 e por PCL e hormônio de crescimento humano (hGH). A incorporação dos compostos ativos hrBMP-2 e hGH proporcionará protótipos e formulações para estudos comparativos de osteoindução. O hGH é uma proteína sobre a qual o grupo de pesquisa desse projeto detém extensivo domínio tecnológico com publicações e patente depositada pelo IPEN. Trata-se de um hormônio que já demonstrou ampla atividade osteogênica. Assim, os efeitos osteoindutivos, próprios da rhBMP-2, serão testados, em comparação com o hGH, em modelo animal de roedores para estudos de "eficácia de osteointegração" e também em modelo de "osteogenesis imperfeita" (OI). Este último modelo foi desenvolvido no biotério do IPEN. Outro importante parceiro do projeto é o Departamento de Embriologia Humana e Biologia Óssea da UNICAMP.

12. Terapia gênica baseada em hormônio de crescimento para tratamento de nanismo e de osteogênese imperfeita

O principal objetivo da pesquisa é utilizar uma metodologia de terapia gênica baseada na eletrotransferência muscular (músculo tibial

anterior) de plasmídeos, contendo os genes do hormônio de crescimento humano (hGH) ou de camundongo (mGH), para tratamento do nanismo em camundongos anões ou de osteogênese imperfeita em camundongos *oim*, portadores dessas doenças.

Com relação ao nanismo, o tratamento padrão baseia-se na administração de repetitivas injeções do hGH recombinante. Apesar de efetivo, esse tratamento apresenta alguns inconvenientes, como o alto custo de obtenção da proteína recombinante, advindos principalmente dos processos de purificação e de controle de qualidade, além da necessidade das repetidas administrações que causam desconforto ao paciente. Com a utilização da terapia gênica, os inconvenientes poderiam ser amenizados, além do fato de essa alternativa possibilitar a liberação da proteína de forma mais fisiológica e natural.

Para a osteogênese imperfeita (OI) ainda não há tratamento específico, mas, dependendo do tipo e da gravidade da doença, são realizadas abordagens cirúrgicas, fisioterapêuticas e farmacológicas. A cirurgia é realizada em casos mais graves, nos quais há alto grau de deformidade óssea em conjunto com alto número de fraturas. Os tratamentos farmacológicos mais utilizados são os com bisfosfonato e neridronato, os quais já demonstraram serem capazes de aumentar a densidade e diminuir o *turnover* e a fragilidade óssea. Outra terapia que tem ganhado espaço na última década é o tratamento com hormônio de crescimento (GH) recombinante, que pode ser administrado sozinho ou concomitantemente com outros fármacos. Além de ajudar estimulando a maior expressão dos genes do colágeno, aumentando assim a síntese de colágeno tipo I normal a partir do alelo normal, esse hormônio proteico tem grande capacidade de tratamento da doença. A explicação é o estímulo ao crescimento ósseo a partir do aumento da deposição de proteínas por osteoblastos e condrócitos, aumentando a taxa de proliferação dessas células e estimulando a conversão de condrócitos e osteoblastos.

O IPEN tem desenvolvido metodologias de terapia gênica *in vivo* para a correção fenotípica do nanismo, utilizando os genes do hormônio de crescimento humano (hGH) e de camundongo (mGH). Nesses estudos,

são empregados dois modelos animais de deficiência de GH, os camundongos anões imunocompetentes (lit/lit) e os anões imunodeficientes (lit/scid), e é realizada a eletrotransferência do DNA plasmidial no músculo tibial anterior desses animais. Foram obtidos efeitos fenotípicos significativos com aumento de peso corpóreo de até aproximadamente 50%, correspondente a uma aproximação da normalidade (*catch-up growth*) de 27% em relação ao camundongo de tamanho normal, e essa normalização alcançou até 77% para o comprimento do fêmur.

Mais recentemente, começou-se a estudar a osteogênese imperfeita (OI), conhecida popularmente como doença dos ossos frágeis ou quebradiços, uma displasia congênita de tecido conjuntivo, caracterizada principalmente por deformidade, fragilidade e baixa densidade óssea, baixa estatura e outras alterações do tecido conjuntivo associadas a alterações estruturais ou quantitativas do colágeno. Os efeitos do hormônio de crescimento (GH) já foram observados em estudos prévios com um modelo animal portador de OI, os camundongos *oim*, após aplicação de hGH recombinante, observando-se diminuição da fragilidade e aumento da densidade óssea, com conseqüente diminuição do número de fraturas, ganho de peso, aumento do comprimento do fêmur e do comprimento do animal. Portanto, considerando a experiência do IPEN nesse campo, o objetivo principal é avaliar, pela primeira vez, os efeitos da terapia gênica por eletrotransferência do gene do hormônio de crescimento de camundongo (mGH) em camundongos *oim*.

13. Estudo dos perfis de N-glicosilação e dos sítios de ocupação glicídica em diferentes preparações de tireotrofina humana (hTSH) hipofisária e recombinante

O objetivo principal consiste em padronizar uma metodologia que permita comparar, quanto a sua estrutura glicídica, amostras do hormônio tireotrofina humana (hTSH), obtidas de diferentes fontes: hTSH nativo hipofisário, recombinantes comerciais e recombinantes desenvolvidos no IPEN produzidos em células CHO e células humanas HEK293,

além de determinar a massa molecular total e a fração de massa glicídica, como também a porcentagem de sítios ocupados existentes.

A grande maioria das proteínas recombinantes de interesse farmacêutico é glicosilada e possui, portanto, um ou mais sítios de potencial glicosilação, nem sempre todos ocupados. A importância da fração de carboidrato de uma glicoproteína já é amplamente conhecida, estando diretamente ligada à solubilidade, estabilidade, enovelamento, meia-vida circulatória e atividade biológica *in vivo*. Apenas recentemente, porém, tem sido considerada a importância da micro e da macroestrutura dos carboidratos, que se identificam sobretudo com o perfil das glicofomas e suas variações (*glycoprofiling*) e com a ocupância, ou seja, a fração de sítios potenciais efetivamente glicosilados. Esses parâmetros, raramente determinados, têm relação direta com o tráfego intracelular, inflamação, mecanismos de defesa e também com várias doenças, entre as quais as síndromes devidas a várias alterações congênitas da glicosilação (CDG). Por essas razões, considerando também a experiência adquirida pelo IPEN no estudo das glicoproteínas hormonais em geral e da prolactina e tireotrofina em particular, objetiva-se a padronização de uma metodologia que permita a simultânea determinação desses dois parâmetros: (1) perfil das glicofomas e (2) porcentagem de ocupância. A execução pode ser feita com base na análise dos N-glicanos (*N-glycoprofiling*) e na determinação da massa molecular da glicoproteína, ambas realizadas mediante MALDI-TOF.

O presente projeto propõe, portanto, realizar essas determinações em preparações de hTSH de origens diferentes, hipofisárias e recombinantes, considerando que os resultados obtidos serão extremamente interessantes, seja para a validação da metodologia em si, seja para o estudo das diferenças existentes entre o produto nativo, secretado pela hipófise humana, e os recombinantes, derivados de células humanas HEK 293 ou de CHO.

Salienta-se que o produto derivado de células CHO é atualmente utilizado como biofármaco para o diagnóstico e a terapia do câncer da tireoide. Será também realizada uma identificação relativa à ocupância

e aos tipos de N-glicanos presentes em cada um dos três sítios de glicosilação, em uma preparação hipofisária e duas recombinantes. Os resultados podem abrir novas perspectivas relativas ao estudo dessas e de outras estruturas de glicoproteínas. O trabalho tem colaboração com o Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT), de São Paulo.

#### 14. Produção de interferon alpha-2a secretado no espaço periplásmico de *Escherichia coli*

Será desenvolvido um processo em escala laboratorial de fermentação e purificação para a produção de interferon alpha-2a, utilizando um sistema de expressão, desenvolvido e patentado no IPEN, baseado na utilização do promotor  $\lambda$ PL constitutivo. Será validado também um método analítico baseado em HPLC de fase reversa para acompanhar e avaliar qualitativa e quantitativamente o produto durante todas as etapas do processo.

O IPEN desenvolve pesquisas em produção de hormônios recombinantes humanos, em escala laboratorial, a partir de bactérias (*E. coli*) modificadas geneticamente. Os melhores resultados de expressão em bactéria no Instituto foram obtidos utilizando o promotor  $\lambda$ PL e o peptídeo sinalizador DsbA, que possibilita que a proteína de interesse seja secretada para o espaço periplásmico bacteriano, sendo sintetizada, portanto, em sua forma autêntica, ou seja, sem a metionina inicial.

A expressão controlada pelo promotor  $\lambda$ PL, regulado por um repressor termossensível, é uma das mais usadas para produção de proteína de larga escala em *E. coli*. O ponto crítico dessa metodologia, baseada na mudança de temperatura, está relacionado aos problemas em geral associados à expressão de proteínas em temperaturas relativamente altas, por exemplo, proteólise e agregação, que podem influenciar de modo negativo a produção de proteínas particularmente lábeis.

Em estudos recentes foi avaliada a expressão de diferentes proteínas utilizando esse mesmo sistema de expressão, porém, sem a utilização do repressor, o promotor atuou, portanto, de forma constitutiva.

Os resultados foram bem interessantes e mostraram que mesmo para a expressão do hGH, que havia demonstrado ser termorresistente, quando cultivado nesse sistema apresentou melhores resultados de expressão a 37 °C. Entre as diversas proteínas estudadas foi incluído o IFN $\alpha$ -2a, cujos resultados serão complementados nesse trabalho, focando principalmente a otimização de um processo de produção em escala piloto/laboratorial e a validação de um método analítico para análise da pureza desse produto.

O interferon foi o primeiro medicamento a demonstrar efeitos benéficos em pacientes com hepatite C, em 1986. Atualmente, todos os tratamentos da hepatite C são baseados no uso de preparações de IFN- $\alpha$  combinadas ou não com a ribavirina. A terapia resulta em rápido declínio dos níveis do vírus da hepatite C no soro, e, em longo prazo, ocorre sua extinção no soro e fígado, ocorrendo a cura da infecção crônica. Os interferons alfa-2 (IFN- $\alpha$ 2) são parte de um grupo heterólogo de proteínas com atividades biológicas semelhantes. Os três principais subtipos de IFN- $\alpha$ 2 são designados  $\alpha$ -2a,  $\alpha$ -2b e  $\alpha$ -2c.

O objetivo fundamental desse projeto é a produção de IFN $\alpha$ -2a em escala laboratorial a partir de bactérias *E. coli* modificadas geneticamente. Para tanto, algumas metas intermediárias necessitam ser atingidas. A primeira dessas metas é validar um método de análise qualitativa e quantitativa por HPLC de fase reversa que permita avaliar o IFN  $\alpha$ -2a presente no extrato bruto bacteriano, obtido a partir de choque osmótico. A técnica será extremamente útil nas próximas etapas, como na otimização de um processo rápido e eficiente de fermentação em biorreator para produção de IFN  $\alpha$ -2a utilizando a cepa W3110 transformada com o vetor IPL-DsbA-IFN $\alpha$ -2a. Essa cepa, desenvolvida no IPEN, é capaz de secretar interferon no espaço periplásmico bacteriano, portanto em sua forma autêntica. Outra meta desse projeto é realizar a purificação do IFN $\alpha$ -2a em escala laboratorial. O produto final, após a caracterização físico-química e biológica, poderá ser utilizado como padrão de referência em estudos futuros, incluindo possíveis aplicações terapêuticas.

15. Efeito de baixas doses de radiação gama em cultura de osteoblastos: uma abordagem proteômica

O objetivo desse projeto é determinar qual é a dose de radiação gama mais adequada para o aumento da formação de nódulos de mineralização e quais proteínas estão envolvidas nos estágios de maior relevância: na proliferação, diferenciação e mineralização de osteoblastos. Foram escolhidos 7, 14 e 21 dias para cada estágio e um ponto no estágio de mineralização tardia de 28 dias desse processo.

A perda óssea em humanos por acidente, medicamentos, idade avançada ou doenças ósseas degenerativas ainda é um problema, principalmente para o serviço público de saúde. Como exemplo, uma das ocorrências mais importantes na perda óssea em humanos, a osteoporose, é uma doença caracterizada pela fragilidade óssea e alterações em sua microarquitetura. A osteoporose é a principal causa de fraturas na população acima de 50 anos e é silenciosa, afetando especialmente as mulheres na pós-menopausa.

O processo de remodelamento ósseo tem como maestro a célula osteoblástica, que gerencia a atividade de deposição de matriz óssea, formando o osso, ou ativando os osteoclastos na reabsorção óssea. O entendimento de quais proteínas e vias celulares estão envolvidas na formação do osso e, principalmente, quando estas são irradiadas, passa pelo uso da técnica de proteômica. Essa técnica é, hoje em dia, uma ferramenta bastante utilizada sobretudo na comparação entre estados diferentes de tecidos por aplicação de algum ativador ou inibidor da expressão de proteínas. Análises proteômicas em culturas irradiadas, seja com raios X ou gama, ainda não foram estudadas.

Os osteoblastos são fibroblastos especializados que secretam e mineralizam a matriz óssea. O uso da radiação como terapia em alguns cânceres causa grande perda óssea. No entanto, a radiação em dose baixa pode ter o efeito oposto. A dose baixa de irradiação X na cultura osteoblástica teve efeitos na proliferação e diferenciação com o aumento dos nódulos

de mineralização. Contudo, há pouca informação sobre a potencial eficácia terapêutica da irradiação gama em baixa dose na formação de nódulos de mineralização. A análise das proteínas dos principais compartimentos celulares das culturas de osteoblastos não diferenciadas, diferenciadas e diferenciadas sob irradiação gama fornecerá uma quantidade considerável de informações sobre o processo de mineralização ainda não abordado na literatura. De posse desses dados, poderemos definir estratégias utilizando a radiação em baixas doses como ferramenta nos casos de perda óssea, seja por acidente, medicamentos, idade avançada ou doenças ósseas degenerativas. Há uma parceria com o Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), em Campinas.

16. Avaliação funcional dos sítios catalíticos da enzima conversora de angiotensina humana com seus substratos e inibidores

O objetivo é obter as regiões catalíticas Ala361, Gli468, Ala959 e Ser1066 em uma conformação estrutural que se assemelha a sua forma nativa e avaliá-las quanto a sua atividade catalítica.

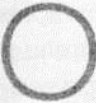
As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) são a principal causa de morbimortalidade, correspondendo a 63% das causas de morte no mundo. Dentre elas, as doenças cardiovasculares (hipertensão arterial, infarto, acidente vascular encefálico) destacam-se pela alta magnitude, respondendo por cerca de 1/3 das mortes globais. A hipertensão arterial é a doença circulatória mais prevalente e é frequentemente associada a alterações metabólicas, que conduzem ao maior risco para desenvolvimento de doenças cardiovasculares fatais e não fatais, insuficiência renal, entre outras. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que cerca de 600 milhões de pessoas tenham hipertensão arterial sistêmica (HAS) e que ocorram 7,1 milhões de mortes anuais decorrentes dessa doença. Estudos indicam um crescimento mundial de 60% dos casos da doença para 2025. A hipertensão arterial acarreta aumento dos custos dos sistemas de saúde e tem afetado a economia global.

O tratamento da hipertensão arterial envolve o uso de medicamentos e a modificação do estilo de vida. Novas pesquisas em fármacos podem colaborar significativamente com a diminuição dessa doença.

A enzima conversora de angiotensina I (ACE) é uma enzima ligada à membrana citoplasmática que catalisa a conversão da angiotensina I para o potente vasopressor angiotensina II. A ACE é uma enzima fundamental no sistema renina-angiotensina, que regula a pressão arterial e é amplamente distribuída por todo o corpo. Existem duas isoformas da ACE humana, incluindo a ACE somática (sACE), presente no tecido somático, e a ACE testicular (tACE), presente nas células germinativas masculinas. O sACE possui dois domínios, domínios N e C, com sítios catalíticos que exibem 60% de identidade. Esses domínios diferem em termos de perfis de ativação de íon cloreto, taxas de hidrólise peptídica de angiotensina I, bradicinina, angiotensina e sensibilidade a vários inibidores. Uma análise mais detalhada mostra que essas regiões são compostas de sequências de HEMGH e EAIGD que ligam íons de zinco que facilitam a atividade catalítica. A pergunta seria: a síntese desses sítios catalíticos com estrutura e atividade corretas poderia ser um bom modelo para estudar novas drogas? Há parceria com o Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), em Campinas.

# Aplicações das radiações ionizantes na saúde



 IPEN é pioneiro nas atividades voltadas para aplicações da tecnologia das radiações no país e possui um histórico de realizações importantes, nos mais diversos segmentos. Além de aplicações das radiações na indústria, na agricultura, na preservação de bens culturais e no meio ambiente, destacam-se as aplicações em saúde. O dinamismo em desenvolver novas tecnologias associadas aos avanços de outras áreas é uma das características da aplicação das radiações e radioisótopos. Tradicionalmente, o IPEN vem acompanhando essa tendência, tornando-se referência na inovação de aplicações da tecnologia nuclear, com alto impacto no futuro da saúde.

No fim da década de 1970, um acelerador industrial de elétrons modelo DC100/25/4 com energia máxima de 1,5 MeV e corrente de feixe máxima de 25 mA foi instalado no IPEN, sendo o primeiro no Brasil. Na década de 1980, iniciaram-se os primeiros ensaios e testes de irradiação em materiais. Na década de 1990, o IPEN instalou mais um acelerador de 1,5 MeV com corrente de feixe máxima de 65 mA no Brasil. Adicionalmente, o IPEN oferece apoio a diversos institutos de pesquisa, universidades e empresas no desenvolvimento de pesquisas que utilizam a tecnologia de processamento por radiação com feixes de elétrons.

Paralelamente à instalação do primeiro acelerador de elétrons, o IPEN iniciou a pesquisa e o desenvolvimento da tecnologia de processamento por radiação gama, utilizando irradiadores de  $^{60}\text{Co}$  de pequeno porte, tipo *Gamma-cell* e panorâmico, para diferentes aplicações, principalmente para fins de pesquisa e ensino. Em 2002 teve início o projeto e construção, no IPEN, de um irradiador multipropósito de  $^{60}\text{Co}$ , com tecnologia nacional. Essa unidade se encontra em operação desde 2004, apresentando

sistemas revolucionários, tanto no controle automático dos parâmetros operacionais como nos de segurança, sendo estes totalmente desenvolvidos no Brasil. A instalação tem uma capacidade licenciada pela CNEN de 37 PBq (1 MCi) e uma atividade instalada de aproximadamente 14,8 PBq (0,4 MCi) em 2018. O porte desse irradiador não só permite processar quantidades semi-industriais de materiais com objetivos de otimização, validação de processos dosimétricos e códigos de simulação computacionais como também permite irradiar quantidades em condições industriais. Dessa forma, essa instalação tem apoiado, mediante o processo de irradiação, tanto a pesquisa como a inovação, ou seja, o setor produtivo. Centenas de trabalhos científicos fizeram uso dessa tecnologia no Instituto. A radiofarmácia do IPEN é a usuária principal dessa tecnologia; nela continuamente são esterilizados os materiais médico-descartáveis usados na fabricação de radiofármacos e radioisótopos utilizados na medicina nuclear, como é o caso do  $^{99m}\text{Tc}$ . Também são desinfestados maravalha e ração animal utilizados em biotérios, eliminando, assim, a transmissão de doenças provocadas por bactérias e fungos.

O IPEN criou, em 1991, um grupo dedicado ao estudo do uso da radiação ionizante de fontes gama ou proveniente de feixe de elétrons no processamento de produtos alimentícios. Atualmente, está disponível uma série de processos aplicáveis em alimentos, alguns muito antigos e tradicionais e outros que foram sendo incorporados no decorrer dos avanços tecnológicos, todos com faixas de aplicação específicas, vantagens e restrições. A indústria de alimentos é uma das mais dinâmicas e ávidas por novidades. O processamento por radiação é conhecido há décadas, mas ainda é pouco aplicado comercialmente.

Em 1992, o IPEN iniciou o desenvolvimento de uma tecnologia alternativa para águas residuais e de tratamento de efluentes industriais, sobretudo para a degradação de poluentes, utilizando a radiação de um acelerador de feixe de elétrons de alta energia. Com o apoio da Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA), foi instalada uma planta-piloto e dados foram obtidos para determinar a viabilidade técnica e econômica do uso de tratamento de efluentes industriais utilizando feixes de

elétrons. Foi também criado o laboratório de análises e caracterização de compostos orgânicos, dedicado a estudar o efeito da radiação ionizante em moléculas orgânicas poluentes, como hidrocarbonetos, pesticidas e compostos aromáticos, por meio da análise das espécies químicas geradas após a irradiação e a caracterização de subprodutos.

O controle ecotoxicológico, hoje, é uma recomendação/obrigatoriedade das legislações federal e estadual, e por esse motivo também foi realizado intenso trabalho para consolidar a metodologia nacional padronizada, pela ABNT, com base nas normas internacionais, mas empregando organismos nativos, sempre que possível. No IPEN, a avaliação de toxicidade foi realizada, principalmente, com o microcrustáceo *D. similis*, a bactéria luminescente *V. fischeri* e o peixe *P. reticulata*. Mais recentemente, a irradiação tem sido aplicada em estudos que consideram os efeitos de medicamentos dispersos como contaminantes das águas, que incluem a redução da toxicidade induzida pela radiação. Entre os parceiros importantes, conta-se com a SABESP, a CETESB, o IPT, a EPUSP, o Instituto Butantan, o SENAI e diversas indústrias dos ramos químico e farmacêutico.

A radioesterilização de tecidos biológicos teve início no Brasil com um projeto, em 1998, financiado pela Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA), que visava à implantação de um banco de tecidos que fosse referência para o armazenamento desses tecidos esterilizados por radiação ionizante (Figura 11). A princípio, foram radioesterilizadas peles provenientes de doadores multiórgãos, mas atualmente essa tecnologia é sobretudo utilizada para a esterilização de ossos, podendo também esterilizar tendões, cartilagens, âmnion (membrana que envolve o feto) etc. O Hospital das Clínicas (HC) e o IPEN, em 2000, assinaram convênio para a criação do banco de tecidos do Instituto Central do HC de São Paulo. A partir de então, as instalações foram montadas no HC e houve treinamento dos pesquisadores do HC e do IPEN, financiados pela AIEA. Trata-se do primeiro banco de tecidos com peles irradiadas, que atende à cidade de São Paulo e a outras do país, de acordo com as normas que regem os transplantes.



11 Descontaminação por radioesterilização de tecido de tilápia do Nilo para tratamento de vítimas de queimaduras. Crédito: Acervo IPEN.

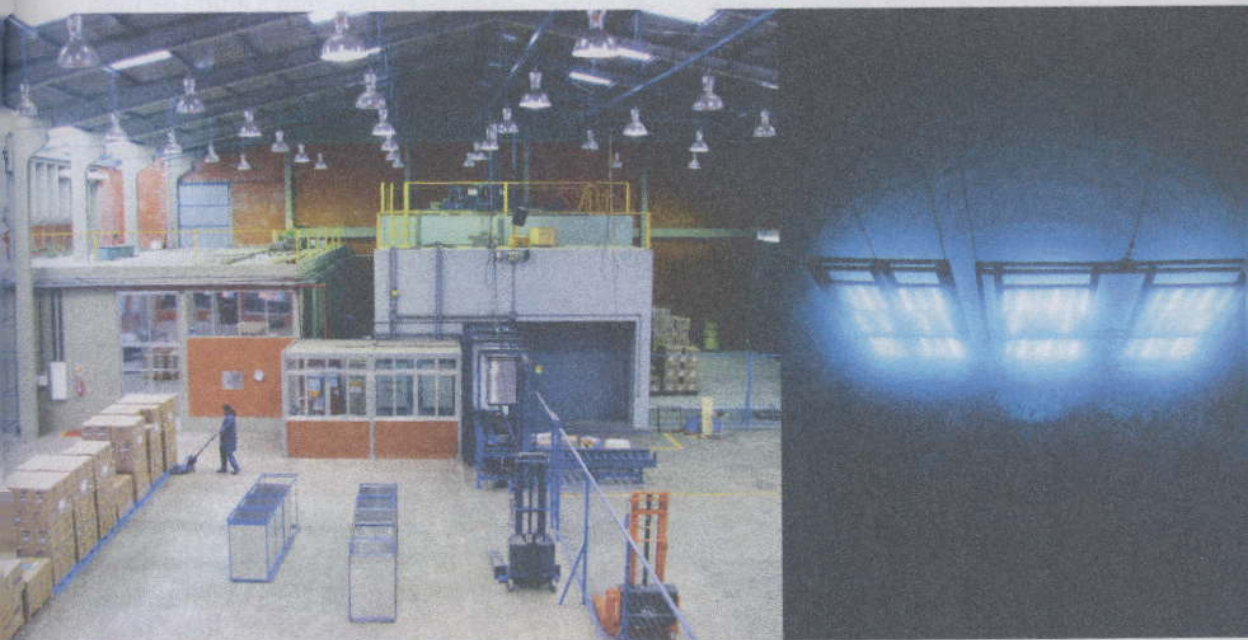
Os primeiros bancos musculoesqueléticos do país, como o Banco de Tecidos Musculoesqueléticos do Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia, o Banco de Tecidos Musculoesqueléticos do Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da FMUSP, e o Banco de Tecidos Musculoesqueléticos do Hospital de Clínicas da UFPR, iniciaram as parcerias com o IPEN para projetos de pesquisa, com o objetivo de estudar os efeitos da

radiação ionizante em ossos congelados ou liofilizados. Posteriormente, alguns desses bancos iniciaram o envio de seus tecidos com frequência para serem radioesterilizados no irradiador multipropósito do IPEN. O Banco de Tecidos Salvador Arena, da Santa Casa de São Paulo, após sua inauguração, em 2005, também passou a esterilizar seus tecidos por irradiação ionizante, além de manter estreita parceria em pesquisas nessa área, tornando cada vez mais eficiente o processo. Entre as inúmeras vantagens de utilizar a radiação ionizante no processo de esterilização dos tecidos, podemos citar como a mais importante o aumento da segurança do transplante, pois a radioesterilização é feita na embalagem final, ou seja, o tecido não será mais manipulado até o momento do transplante.

Desde 2005, o irradiador multipropósito de  $^{60}\text{Co}$  tem contribuído para o beneficiamento e/ou preservação de diferentes bens culturais e transferido essa tecnologia para a sociedade (Figura 12). Objetos de valor cultural tais como livros, pinturas, molduras, esculturas, tecidos etc. são desinfestados e desinfetados por processamento por radiação gama. O IPEN possui a tecnologia de higienização e descontaminação de acervos culturais diversos. Com ela, já foram beneficiadas várias instituições, como a Biblioteca Mário de Andrade, o Museu de Arte Moderna de São Paulo, o Museu Afro Brasil, o Instituto Tomie Ohtake e a Pinacoteca do Estado de São Paulo, entre outros. Também foram realizados trabalhos em parceria com o Instituto de Estudos Brasileiros da USP, o SENAI e restauradores profissionais. Adicionalmente, foram tratados objetos

de valor histórico do acervo do Palácio do Governo do Estado de São Paulo, onde foram detectadas infestações de cupim em diversas obras, sobretudo em painéis de madeira de artistas como Volpi, Ohtake etc., cujas dimensões são relativamente grandes, chegando a quatro metros de comprimento. Outra vantagem da técnica de irradiação é que obras com essas características são processadas sem serem retiradas das caixas utilizadas como embalagem para transporte, evitando assim possíveis acidentes em sua movimentação. Outra atuação importante dessa tecnologia diz respeito a acervos bibliotecários. Atualmente, 800 mil fascículos do acervo da biblioteca Terezine Arantes Ferraz, do IPEN, estão em processo de higienização no irradiador multipropósito de  $^{60}\text{Co}$ . Um trabalho que levaria meses, talvez anos, para ser concluído em um processo convencional, com a tecnologia de irradiação, pode ser executado em questão de horas.

**12** O irradiador multipropósito do IPEN tem ampla gama de utilização, desde a esterilização de produtos médicos e alimentícios até a preservação de bens culturais e históricos.  
Crédito: E. R. Paiva.



Outra importante e tradicional atividade do IPEN é o desenvolvimento e a produção de fontes seladas para a saúde. Atualmente, o Instituto produz fontes radioativas seladas para indústrias, como os radioisótopos  $^{60}\text{Co}$ ,  $^{75}\text{Se}$  ou  $^{192}\text{Ir}$ , hermeticamente fechadas em uma cápsula metálica de aço inoxidável, não estando em contato direto com o meio externo. Há várias aplicações industriais que empregam fontes seladas, entretanto, há também uma de grande importância na área da saúde, a chamada braquiterapia. A partir da metade dos anos 1980, avanços tecnológicos e novos produtos renovaram o interesse no uso da braquiterapia, em implantes permanentes com sementes de  $^{125}\text{I}$ , para tratamento de câncer de próstata. Seguindo essa tendência, na década de 1990 foi criado no IPEN o grupo de braquiterapia para a pesquisa e a produção de sementes de  $^{125}\text{I}$  para tratamento de câncer (Figura 13). Os implantes com sementes oferecem um tipo de terapia menos invasiva, caracterizando-os como um procedimento não cirúrgico. Pequenas sementes são injetadas diretamente na próstata com a ajuda de uma fina agulha através da pele, entre o reto e o escroto. Uma grande dose de radiação é liberada apenas na próstata, atacando o tumor. A técnica exige, em geral, a aplicação de 80 a 120 sementes por paciente. As sementes são constituídas de uma cápsula de titânio de 0,8 mm de diâmetro externo, 0,05 mm de espessura de parede e 4,5 mm de comprimento. O interior da cápsula acomoda um fio de prata contendo o  $^{125}\text{I}$  adsorvido. As vantagens da técnica são: a) a acentuada diminuição da dose fora da área do implante, poupando tecidos sadios; b) menor incidência de efeitos colaterais como impotência e incontinência urinária se comparada aos tratamentos convencionais e c) o paciente pode retornar à atividade normal dentro de 1 a 3 dias. O IPEN instituiu um projeto para desenvolvimento tecnológico e produção das sementes de  $^{125}\text{I}$  com a finalidade de nacionalizar o produto, tornando-o disponível à classe médica.

Ainda na área da braquiterapia, são produzidos no IPEN fios de  $^{192}\text{Ir}$  para tratamento de câncer, que consiste na inserção de fios radioativos diretamente em tumores. Esses fios, colocados em contato direto com o tumor, possibilitam uma irradiação em doses mais elevadas, pois,



sendo uma irradiação localizada, o tecido periférico ao tumor estará parcialmente protegido.

O desenvolvimento da produção de fontes seladas de  $^{133}\text{Ba}$ ,  $^{57}\text{Co}$  e  $^{137}\text{Cs}$  foi iniciado no IPEN, em escala laboratorial, para calibração ou aferição de equipamento utilizado na medicina nuclear. Em meados de 2010, teve início a produção das fontes em grande escala, as quais começaram a ser manufaturadas e comercializadas pelo Instituto (Inovação Tecnológica) em 2012, visando à substituição das fontes seladas adquiridas por importação. Essas foram as primeiras fontes produzidas com tecnologia nacional; até então, todas as fontes precisavam ser importadas. As fontes seladas de referência fazem parte das exigências da CNEN para o licenciamento e funcionamento das instalações de medicina nuclear, imagens e afins. As fontes são utilizadas na verificação de medidores de radioatividade, denominados curiômetros. Para atender à recomendação da norma CNEN-NN-3.05 “Requisitos de Radioproteção e Segurança para Serviços de Medicina Nuclear”, todos os centros de

**13** Sementes de  $^{125}\text{I}$  para uso em braquiterapia.  
Crédito: E. R. Paiva.

medicina nuclear devem ter esses medidores aferidos, disponíveis em suas instalações, para verificação da atividade de radiofármacos, que serão administrados nos pacientes para fins de diagnóstico e terapia.

Hoje em dia, as fontes seladas de  $^{133}\text{Ba}$ ,  $^{57}\text{Co}$  e  $^{137}\text{Cs}$ , cujas tecnologias de fabricação estão totalmente dominadas, são produzidas com geometria padrão de frasco cintilador com volume radioativo de  $20\text{ cm}^3$ , diâmetro de 27 mm e comprimento de 61 mm, requeridas na calibração ou aferição de curiômetros usuais da medicina nuclear e distribuídas em diversos hospitais e clínicas do Brasil.

As nove linhas de pesquisa mais relevantes, em desenvolvimento no IPEN, que abrangem as aplicações das radiações ionizantes no campo da saúde são descritas a seguir.

#### 1. Aceleradores em radioterapia: linear e prótons

Com a instalação de um acelerador linear para fins de pesquisa e treinamento no IPEN, objetiva-se o desenvolvimento e a capacitação do país para a implantação de centros de tratamento com prótons.

O câncer é um grupo de doenças que se caracterizam pela reprodução desenfreada de células anômalas. Essas células podem se espalhar pelo corpo e resultar em morte. O câncer pode ser causado por fatores internos, como mutações genéticas hereditárias, ou por fatores externos, como o uso de tabaco, álcool, dieta não saudável, entre outros. Com o avanço da tecnologia e da medicina, os diagnósticos são realizados precocemente, possibilitando a descoberta da doença nos estágios iniciais. Embora sejam raramente discutidas, as repercussões de ordem econômica e social do câncer são grandes. As implicações para os doentes, a família e a sociedade em geral são a dor, o sofrimento, a incapacidade e a morte. Consume-se vasta quantidade de recursos destinados à detecção, ao diagnóstico e ao tratamento e se reduz o potencial de trabalho humano.

Existem dois tipos de radioterapia com aceleradores e com fontes radioativas. Os dois são consolidados como tecnologias a serem

utilizadas, tendo, portanto, suas vantagens e desvantagens. Como principal vantagem do uso de aceleradores, podemos citar que a máquina desligada não emite radiação, logo, facilita a segurança e diminui as necessidades de proteção radiológica. Apesar do custo mais elevado, hoje, no Brasil, vários hospitais têm preferido utilizar essa modalidade, e o IPEN tem de criar uma estrutura para suporte tecnológico e de pesquisa nessa área.

É importante ressaltar que, como os aceleradores de prótons são uma tendência mundial, o IPEN deverá estar preparado para receber essa tecnologia, que está em vias de ser adquirida no Brasil.

O câncer é um dos maiores problemas de saúde pública mundial, portanto o governo federal tem a obrigação de garantir o pleno tratamento para toda a sociedade. Em consonância com os objetivos do governo, e levando em consideração que o tratamento de câncer tem um custo expressivo, o IPEN obteve a doação de um acelerador linear do Hospital Israelita Albert Einstein, para ser o primeiro acelerador médico do hemisfério sul dedicado à pesquisa. Esse equipamento ainda necessita, porém, de um *bunker* para sua instalação e operação. Quando o equipamento estiver instalado, o IPEN poderá, além das pesquisas, treinar novos operadores para suprir a necessidade desses profissionais no Brasil. Vale lembrar que o governo federal tem um programa ativo para a implantação de 80 soluções de radioterapia, e, no momento, percebe-se que parte desses equipamentos, quando vier a operar, não terá corpo técnico habilitado e treinado.

No caso da terapia com prótons, que hoje é uma tendência mundial, tem-se mostrado eficiente para o tratamento de alguns tipos de câncer principalmente em crianças, já que o equipamento, devido à característica do feixe de prótons, consegue focar com precisão a área a ser tratada. O Brasil ainda não possui essa tecnologia, porém vários hospitais se mostram interessados em adquiri-la. Acredita-se que a Instituição precisa se preparar para colaborar com a discussão e a implantação dessa nova tecnologia junto à classe médica, confirmando sua vocação de pioneirismo nas modernas técnicas da radioterapia.

2. Desenvolvimento e dosimetria de fontes para radioterapia ( $^{192}\text{Ir}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{32}\text{P}$ , nanopartículas e outras)

Nesse projeto, objetiva-se a produção de fontes radioativas para tratamento de câncer para utilização em radioterapia, com o intuito de disseminar a tecnologia para atender o maior número de pacientes pelo menor custo possível.

O IPEN tem conduzido a produção e a nacionalização das fontes radioativas específicas para o tratamento de câncer. Por exemplo, o Instituto distribui fios de  $^{192}\text{Ir}$  para diversas clínicas e hospitais no Brasil.

As sementes de  $^{125}\text{I}$  já possuem a tecnologia do protótipo desenvolvida, faltando apenas adaptar tais tecnologias para uma escala produtiva. As sementes são utilizadas para tratar câncer de próstata, oftálmico, cerebral e como marcador para localização de tumores de mama não palpáveis.

Os pellets de  $^{192}\text{Ir}$  são utilizados para tratar câncer de colo de útero, pulmão e outros. A fonte está em desenvolvimento, e o laboratório de produção desse insumo está em construção.

Ao mesmo tempo, outros produtos, como o  $^{32}\text{P}$ , estão em estágios iniciais, pois o IPEN tem-se dedicado a provar a viabilidade dessas técnicas para, futuramente, dispor desses produtos para os pacientes.

O Brasil não produz esses tipos de fonte, portanto nosso país passa a ser um importador de produtos, o que gera um custo elevado aos pacientes que necessitam dessas fontes. Logo, para a produção das fontes deve ser desenvolvida uma tecnologia nacional, que garanta a soberania do país em relação aos grandes produtores mundiais da área médica. No caso específico da nanobraquiterapia, que é uma tecnologia embrionária, o IPEN encontra-se muito próximo do estado da arte, já que os poucos grupos de pesquisa do mundo ainda estão desenvolvendo a técnica. O mercado-alvo desses produtos é a sociedade como um todo e principalmente o sistema único de saúde, o que garantirá maior quantidade de pacientes tratados no país.

Esse projeto, como aqui descrito, está subdividido em vários subtemas e é de fundamental importância para os pacientes que demandam os

materiais importados atualmente. O principal obstáculo para o desenvolvimento das fontes nacionais é a sensibilização das agências de fomento sobre a importância sobre a pesquisa de nacionalização.

### 3. Estudo do efeito de derivados do grafeno em tecidos biológicos

O objetivo principal desse projeto é a incorporação de óxido de grafeno (OG) funcionalizado de baixa citotoxicidade em tecidos biológicos que possuem colágeno tipo I para aumentar sua resistência mecânica.

Com o avanço da engenharia de tecidos, estimulado pelo advento da nanotecnologia, foi possível a construção de *scaffolds* modificados para a arquitetura de tecidos funcionais e como suporte para o crescimento celular. É sabido que o grafeno abriu novos horizontes no campo da nanotecnologia e das nanociências em geral, devido a suas características específicas, como grande área superficial específica de  $2.620 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  por monocamada, excelente condutividade elétrica e térmica, alta resistência mecânica e estabilidade química, fazendo do grafeno um nanomaterial de vasta aplicação, incluindo a aplicação na área médica como sistema de transporte e liberação de drogas.

Um dos compostos à base de grafeno que tem se destacado na área médica é o OG. Esse composto apresenta grupos hidrofílicos como o epóxi, hidroxilas, carbonilas e carboxilas que promovem interações biológicas no nanomaterial, permitindo sua utilização como revestimento na engenharia de tecidos. Existem algumas preocupações quanto ao potencial de toxicidade do grafeno e de seus derivados utilizados na área biomédica, porém estudos indicaram que a funcionalização desses nanomateriais leva à modificação de suas características físico-químicas, melhorando sua compatibilidade com o ambiente fisiológico e diminuindo sua toxicidade. Ensaio bioquímicos e análises histopatológicas realizadas em camundongos após a injeção de óxido de grafeno com aminopolietilenoglicol (OG-PEG-NH<sub>2</sub>) indicaram que esses animais não apresentaram nenhum tipo de manifestação tóxica decorrente do tratamento. A incubação de várias culturas celulares como células

linfoblastoides (RAJI), linhagens celulares de câncer de cólon (HCT-116), carcinoma ovariano humano (OVCAR-3), glioblastoma (U87MG) e células de câncer de mama com OG-PEG-NH<sub>2</sub> não apresentou citotoxicidade até 100 µg/mL. Em 2014, estudos demonstraram que a incorporação do óxido de grafeno como revestimento em *scaffold* de colágeno aumentou a resistência do material à compressão e ao crescimento interno celular.

Os compósitos à base de grafeno estão entre os materiais que têm se destacado na nanomedicina. Esses compósitos mimetizam os tecidos biológicos naturais, modificam a topografia de uma superfície, facilitam a adesão e a regulação da migração celular e podem ainda ser utilizados como sistemas de entrega de drogas para agentes terapêuticos. Como já mencionado, dentre os derivados do grafeno destaca-se o óxido de grafeno (OG), pois sua superfície pode ser modificada por uma série de polímeros, tais como: quitosana, polietilenoglicol (PEG), poli(caprolactona), poli-L-lisina (PLL), álcool polivinílico (PVA) ou biopolímeros como proteínas, por exemplo, a albumina de soro bovino (BSA), dopamina, polissacarídeo e o DNA. Essa modificação melhora a biocompatibilidade *in vitro* e *in vivo* do nanomaterial, possibilitando sua incorporação e consequente utilização em tecidos biológicos.

A incorporação de óxidos de grafeno funcionalizados em tecidos biológicos, que possuem alguma estrutura de colágeno do tipo I, de origem animal, por exemplo, suínos/bovinos, poderá ser utilizada em enxertos de pele, ossos, tendões, ligamentos, dentes, fâscias e em biomateriais para a confecção de dispositivos cardiovasculares. O produto final resultará em um biomaterial com resistência mecânica maior do que a encontrada atualmente no mercado. Haverá maior durabilidade das biopróteses, melhora na qualidade de vida dos pacientes, que não necessitarão de outra cirurgia para a troca dessas próteses, continuando assim com suas atividades normais por um período maior e, consequentemente, a redução de gastos na área da saúde.

O presente estudo avaliou a incorporação do óxido de grafeno funcionalizado, por adsorção e por reação química, em tecidos biológicos que possuem colágeno tipo I. Resultados preliminares indicaram baixa

citotoxicidade do óxido de grafeno funcionalizado com aminopolietileno em células de ovário de hamster chinês (CHO) e um aumento na resistência mecânica da membrana do pericárdio bovino utilizado para a fabricação de dispositivos cardiovasculares.

4. Tratamento de câncer interno com terapia fotodinâmica (PDT) gerado por nanopartículas em sementes de <sup>125</sup>I

A meta dessa pesquisa é a produção de fontes radioativas com nanopartículas que emitem luz, para o tratamento de câncer, a serem utilizadas em radioterapia, com a finalidade de minimizar a dose de tratamento para os pacientes.

Como já sabido, o câncer é a segunda causa de mortes por doenças, subsequente às doenças cardiovasculares. Com o contínuo crescimento populacional, bem como seu envelhecimento, segundo o último relatório de 2013 da Agência Internacional para Pesquisa em Câncer IARC/OMS, a incidência de neoplasias cresceu mais que 20% na última década. No Brasil são esperados 576 mil novos casos, enquanto no mundo se espera, para 2030, 27 milhões de novos casos. Dentre as possibilidades de tratamento do câncer, a radioterapia e, ainda, a braquiterapia são modalidades utilizadas para a aplicação da radiação ionizante na região em que se deseja extinguir a neoplasia, aumentando a mortalidade celular. Estima-se que 2/3 dos pacientes em alguma etapa do tratamento acabam utilizando a radioterapia. Entretanto, alguns efeitos adversos do tratamento ainda trazem consequências maléficas ao paciente, como o caso da radionecrose tecidual. Ao mesmo tempo, o PDT (sigla em inglês de terapia fotodinâmica) tem-se mostrado uma nova tecnologia com potencial extremamente promissor para o tratamento de diversos tipos de câncer. A luz gerada pelo PDT auxilia nos mecanismos de combate do corpo a esses efeitos adversos. Portanto, o projeto pode demonstrar que o uso das duas tecnologias combinadas, ou seja, radioterapia e PDT, pode reduzir a dose de radiação a que o paciente fica exposto, sem diminuir a eficácia do tratamento.

Por conseguinte, é necessário investigar quaisquer efeitos nocivos que poderiam potencialmente emergir da fotobiomodulação (PBM, anteriormente conhecida como terapia de luz de baixa intensidade ou LLLT) para os tratamentos de úlceras peritumorais em modelos *in vivo*. Pretende-se investigar o efeito da PBM fornecendo irradiação com luz visível (laser de 660 nm) diretamente em tumores invasivos (LNCaP) e não invasivos (PC-3) em camundongos, com ou sem a inserção de sementes de  $^{125}\text{I}$  para comparar e complementar os resultados preliminares feitos em camundongos atômicos sem tumor. Nesse estudo, tratar-se-á de tumores experimentais de próstata (LNCaP e PC-3) com sementes de iodo (1,16 mCi) e com a PBM para avaliar respostas desses tumores à terapia com a luz, para equalizar o tratamento braquiterápico sem os efeitos colaterais de maior magnitude como a radionecrose.

Em uma segunda etapa do projeto, quando for ratificado o efeito maléfico menor que o PBM/PDT causa nos tecidos, poder-se-á produzir sementes  $^{125}\text{I}$  revestidas com as nanopartículas que emitem luz. Estas são de dois tipos inicialmente, nanopartículas dopadas com terras-raras (YAG:Eu $^{3+}$ ) e nanopartículas de rubídio  $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^{2+}$ . As sementes com nanopartículas serão analisadas, a princípio, em cultura de células, para, em um segundo momento, serem analisadas em camundongos com câncer.

A terceira etapa do projeto deverá correlacionar o efeito biológico da dose em radioterapia com o efeito biológico da terapia de radioterapia e PBM/PDT combinados. A correlação dará subsídios para que se preparem os parâmetros dosimétricos necessários a essa técnica para tratar os pacientes futuramente. Todo o trabalho da terceira etapa será efetuado com a utilização de fantasmas existentes no IPEN. Após a finalização dessa análise, será definido um grupo de animais para que se analise a real eficácia do tratamento com as doses calculadas da terapia combinada.

A quarta etapa será a preparação do laboratório para uma escala piloto industrial. Essa quarta etapa é posterior ao projeto de pesquisa proposto, mas já demonstra a inovação pretendida pelo grupo de trabalho.

Ainda não existe qualquer trabalho que tenha mostrado os efeitos de PDT e radioterapia conjuntamente. Esse projeto é o estado da arte, mostrando que, dentre as tecnologias atuais de ponta, é considerado um dos mais importantes.

5. Incorporação de nanopartículas de prata pelo processo de irradiação em cateter venoso central (CVC) de poliuretano revestido com óxido de titânio para atividade antibacteriana

O objetivo desse projeto é a utilização da radiação ionizante para incorporação de nanopartículas de prata em cateter venoso central (CVC) a fim de que este adquira propriedades antibacterianas. O projeto surgiu da necessidade de avaliar alternativas para um dos maiores desafios do tratamento de pacientes gravemente enfermos, que é a contaminação de cateteres introduzidos na corrente sanguínea e subsequente infecção sepse grave e choque séptico, associados com elevada morbimortalidade.

Os cateteres intravasculares são aliados indispensáveis na prática da medicina moderna, particularmente em unidades de terapia intensiva (UTIs). Pelo cateter venoso central (CVC), pacientes que ficam muito tempo internados recebem medicação e alimentação, sendo, no entanto, importante fonte de infecção da corrente sanguínea primária. Os CVCs de poliuretano podem ter sua superfície modificada pela incorporação de titânio e prata (Ti/Ag), que possuem características antibacterianas conhecidas desde a antiguidade.

A incorporação das nanopartículas de prata sobre o polímero pode ser feita com o uso da radiação ionizante, que também irá esterilizar o material. Assim, o trabalho tem por objetivo utilizar a radiação ionizante para incorporação de nanopartículas de prata em cateter venoso central (CVC), a fim de adquirir propriedades antibacterianas. Utilizou-se o CVC Pellethane 2363-65D, termoplástico de poliuretano elastômero (TPU), óxido de titânio puro, sintetizado pelo processo sol-gel e nanopartículas de prata (NpAg\_925). A irradiação para incorporação da prata

foi com dose de 25 kGy e com taxa de dose de 1,03 kGy/h em um irradiador "Gammacel 220" de  $^{60}\text{Co}$ . Posteriormente, os cateteres foram esterilizados com dose de 25 kGy. Para a caracterização dos cateteres revestidos com titânio e prata, foi feita a microscopia eletrônica de varredura (MEV), análise por ativação neutrônica e a espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). Para o teste de ação antibacteriana, foi utilizado como cepas o *Staphylococcus aureus* - Gram positivo e *Escherichia coli* - Gram negativo. Pode-se concluir que a incorporação da prata pelo processo de irradiação foi possível e que o processo não afeta a estrutura do polímero, o que é importante para a correta inserção do cateter venoso central no corpo do paciente. Observou-se que o método sol-gel, para deposição do titânio na superfície do CVC, não foi homogêneo, dificultando a incorporação da prata, que depende do titânio nesse processo. Os testes iniciais de análise antibacteriana não indicaram atividade antimicrobiana nos cateteres revestidos com titânio e prata. Talvez a metodologia escolhida seja inadequada para esse tipo de análise. Assim sendo, é necessário aperfeiçoar os métodos de deposição de titânio para polímeros de superfície cilíndrica. Na continuidade dos estudos, também se sugerem novos testes de ação antibacteriana para superfícies cilíndricas, a fim de fazer a contagem de colônias para comparações de resultados de efeito antibacteriano e assim conseguir mensurar a melhor concentração de prata para o efeito antibacteriano em cateteres.

#### 6. Modelo de radionecrose induzida em camundongos e ratos por meio de fonte de $^{60}\text{Co}$

Essa pesquisa visa à obtenção de um modelo animal de radiodermite e radionecrose, em dorso de camundongos e ratos, utilizando fonte de  $^{60}\text{Co}$ . Dentre as possibilidades de tratamento do câncer, a radioterapia é uma das modalidades utilizadas durante o período de sua evolução. A radioterapia por feixe externo utiliza diferentes fontes de radiação, como raios X e emissão de fótons (p. ex., aceleradores lineares ou fonte

de  $^{60}\text{Co}$ ). A finalidade da radioterapia é aplicar radiação ionizante na região em que se deseja tratar a neoplasia, aumentando a mortalidade celular e, conseqüentemente, extinguindo a massa tumoral existente. Entretanto, além dos efeitos terapêuticos da radiação, podem ocorrer complicações específicas que se apresentam sobre a pele, tecido subcutâneo, músculos, vasos e ossos com expressão clínica que varia de acordo com a atividade proliferativa celular do órgão envolvido.

Nos tecidos com alta atividade proliferativa celular, como a pele, as manifestações clínicas de lesão, após a irradiação, aparecem em curto período. Quando essas complicações ocorrem, podem se apresentar com expressão clínica que varia desde o eritema cutâneo até a radionecrose, sendo este o efeito adverso com maior gravidade. A radionecrose é caracterizada pela seqüência radiação, hipóxia, hipovascularização e hipocelularidade dos tecidos. A irradiação pode causar comprometimento do endotélio, hialinização e trombose dos vasos. Suas manifestações clínicas podem se apresentar logo após a radioterapia ou anos após o término desta.

O tratamento para radionecrose envolve inicialmente a avaliação da gravidade da lesão, podendo ser conservador ou paliativo, utilizando câmara hiperbárica ou soluções tópicas antimicrobianas e anti-inflamatórias. O tratamento pode ser até mesmo cirúrgico, com desbridamento da área necrosada e recobrimento com retalho ou aloenxertos.

Descreve-se nessa pesquisa um modelo animal usando camundongos atômicos para mimetizar a lesão cutânea induzida por fonte de  $^{60}\text{Co}$ . O protocolo inclui medidas de taxa de dose, usando diodos de silício previamente calibrados, uma blindagem com quatro blocos de chumbo e um tubo de PVC projetado para imobilizar o camundongo e/ou rato a fim de irradiar um ponto específico da pele do dorso, que é subdividido em quatro partes. As medidas de taxa de dose são realizadas em um irradiador panorâmico com fonte de  $^{60}\text{Co}$  com uma sonda dosimétrica constituída por um diodo de silício encapsulado em acrílico opaco para proteção em relação à luz ambiente e conectado a um eletrômetro. As correntes geradas no volume sensível do diodo são registradas

em função do tempo de exposição à radiação gama em um intervalo de dose de 0,015 Gy/min a 1,45 Gy/min. Após a dosimetria, cada camundongo e/ou rato é anestesiado, utilizando Xilazina e Cetamina, e introduzido em um tubo de PVC, e uma pequena porção de pele (1 cm<sup>3</sup>) é exposta. O tubo é então fixado ao arranjo, e o camundongo/rato é irradiado durante 60 minutos, depois devolvido a sua gaiola.

Observou-se que a ferida foi visualizada em todos os animais e fotografada após 5 dias de irradiação, com o surgimento de ulceração após 9 dias. Nenhuma seqüela sistêmica ou letal ocorreu ou foi visualizada em nenhum animal. Os sinais clínicos tardios incluíram cicatrização após 22 dias. A pesquisa resultou em um modelo animal pré-clínico funcional, que pode ser usado para novas terapias, melhorando o tratamento da radioterapia. Há colaboração com a Faculdade de Medicina da USP (FMUSP) nesse desenvolvimento.

7. Avaliação da utilização de substitutos dermoepidérmicos na regeneração cutânea de radionecrose induzida em camundongos atímicos

A finalidade desse trabalho é a avaliação, por meio de análise histológica e imuno-histoquímica, do uso de queratinócitos humanos cultivados *in vitro* sobre a matriz dermoepidérmica repovoada por fibroblastos e células mesenquimais derivadas da gordura. Estima-se a possibilidade de produzir *in vivo* o tecido cutâneo regenerativo, quando utilizado em camundongos imunodeficientes, submetido à indução de radionecrose tecidual.

A incidência de neoplasias tem aumentado expressivamente nos últimos anos, e o contínuo crescimento populacional, bem como seu envelhecimento, aumentará de forma significativa a estatística dessa enfermidade nas doenças mundiais.

O tratamento das neoplasias geralmente consiste no uso singular ou combinado entre a quimioterapia, cirurgia e radioterapia, dependendo da etiologia do tumor. Nos casos em que a radioterapia é empregada, além dos efeitos terapêuticos da radiação, podem ocorrer complicações

específicas, e, na pele, essas complicações podem se apresentar com uma expressão clínica que varia desde o eritema cutâneo até a radionecrose; este último é o efeito adverso com maior gravidade. O tratamento para a radionecrose consiste no desbridamento das áreas necróticas e recobrimento do leito cirúrgico. Os enxertos autólogos são mais comumente usados para esse recobrimento. Entretanto, quando grandes áreas são afetadas, os aloenxertos podem ser usados como tratamento oclusivo e, ainda, com a adição de queratinócitos e células mesenquimais derivadas da gordura, torna-se uma alternativa por seu conhecido papel imunomodulatório e regenerativo. Nesse sentido, visando simular os efeitos adversos da radionecrose, foi criado um modelo animal de radionecrose cutânea induzida em camundongos *Nude* (Nu/Nu) para o desenvolvimento de terapias regenerativas baseadas em substitutos dermoepidérmicos humanos contendo queratinócitos e células mesenquimais derivadas da gordura. O modelo se mostrou eficiente como tratamento oclusivo. Esse projeto contempla colaborações com a Faculdade de Medicina e a Faculdade de Odontologia da USP.

#### 8. Efeitos da radiação ionizante nas proteínas presentes em ossos humanos desmineralizados, liofilizados ou congelados

O objetivo desse trabalho foi estudar os efeitos da aplicação da radiação gama e de feixe de elétrons, produzidas por fontes de  $^{60}\text{Co}$  e acelerador de elétrons respectivamente, nas doses de 15 kGy, 25 kGy e 50 kGy nos tecidos ósseos desmineralizados preservados congelados e liofilizados. Também se inclui no objetivo a avaliação das possíveis alterações na concentração de proteínas totais e das BMP-2 e BMP-7, de modo a determinar a melhor dose para proporcionar a segurança na esterilidade e a preservação das proteínas osteoindutivas dos enxertos ósseos.

Existe uma crescente demanda de solicitações de enxertos musculoesqueléticos alógenos para reconstruções ortopédicas e odontológicas no Brasil. Os bancos de tecidos musculoesqueléticos são organizações que se responsabilizam pela seleção dos doadores, captação,

processamento, armazenamento, distribuição e controle de qualidade dos tecidos. Os tecidos ósseos são obtidos de doadores falecidos ou vivos. Os tecidos musculoesqueléticos são usados principalmente nas revisões de artroplastias do quadril e joelho, no tratamento de pacientes portadores de tumores ósseos, nas reconstruções articulares para tratamento das lesões ligamentares, no levantamento do seio maxilar com atrofia e enxertia em mandíbula para a instalação de implantes dentários.

Há intensa preocupação em garantir a qualidade dos tecidos e promover a segurança dos pacientes receptores de tecidos homogêneos em relação à transmissão de doenças infectocontagiosas. Com o propósito de eliminar possíveis contaminações, é feita, no doador de tecidos ósseos, a triagem sorológica, avaliação do histórico e comportamento social, assim como testes de biologia molecular para detecção de RNA viral de HIV e HCV, exames clínicos e controles microbiológicos, além de serem aplicadas técnicas assépticas durante os procedimentos. Entretanto, existe a possibilidade de contaminação com microrganismos durante a captação, processamento, preservação e armazenamento dos tecidos. Diversos profissionais responsáveis pelos bancos de tecidos consideram importante que tecidos biológicos sejam esterilizados por um método eficaz, como a radiação ionizante.

A esterilização por radiação ionizante é um método que apresenta vantagens sobre outros, pois proporciona um aumento mínimo da temperatura e não deixa resíduos tóxicos, o que a torna passível de ser usada, além de ser uma esterilização final. Porém, sabe-se que a esterilização por radiação ionizante pode acarretar alterações estruturais e biológicas em relação à dose nos tecidos ósseos. Os diferentes tipos de preservação óssea podem afetar tanto a manutenção das proteínas quanto a interação da radiação ionizante com o tecido. As diferentes doses de radiação ionizante também podem influenciar a integridade óssea quanto à manutenção do potencial osteoindutivo desses enxertos. O melhor conhecimento desses parâmetros pode auxiliar os responsáveis pelos bancos de tecidos na escolha das condições de irradiação e preservação dos tecidos e qualidade dos enxertos usados nos transplantes.

Assim, a pesquisa visa estudar os efeitos da aplicação das radiações ionizantes (gama e elétrons), como agentes esterilizantes, nos tecidos ósseos desmineralizados congelados e liofilizados para uso em transplantes. Cinco diáfises femorais humanas de doadores distintos de tecidos musculoesqueléticos foram desmineralizadas e preservadas liofilizadas ou congeladas a  $-80^{\circ}\text{C}$ . As amostras foram divididas em grupos não irradiados (controle) e irradiados por raios gama ou feixe de elétrons. As proteínas ósseas foram extraídas e dosadas suas concentrações de proteínas totais, BMP 2 e 7. Foi observada diminuição das concentrações de proteínas totais e BMP 2 e 7. A diminuição das concentrações de proteínas totais, quando comparada com o respectivo controle, foi significativa nos grupos de amostras liofilizadas e congeladas e irradiadas na dose de 50 kGy por radiação gama e feixe de elétrons com reduções superiores a 30%. A diminuição significativa nas concentrações das BMP 2 e 7 também foi observada nas maiores doses e principalmente por feixe de elétrons. As reduções nas concentrações das proteínas totais e em proteínas osteoindutoras (BMP 2 e 7) foram relacionadas à dose de radiação, ou seja, aumentam com maiores doses, tipo de radiação ionizante e tipo de preservação dos ossos. As maiores reduções das concentrações foram observadas nos ossos irradiados por feixe de elétrons e na dose de 50 kGy. Esse desenvolvimento tem a participação da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

#### 9. Enxertia de materiais poliméricos utilizando a radiação ionizante para aplicações em saúde

Objetiva-se sintetizar materiais poliméricos enxertados pelo método RAFT, utilizando a radiação ionizante para obtenção de copolímeros híbridos bem projetados pela introdução de moléculas poliméricas com propriedades úteis de superfície em bases com características apropriadas de aplicação na área da saúde. Os grupos funcionais novos adicionados melhoram propriedades como hidrofiliabilidade, adesão, biocompatibilidade, condutividade, entre outras.

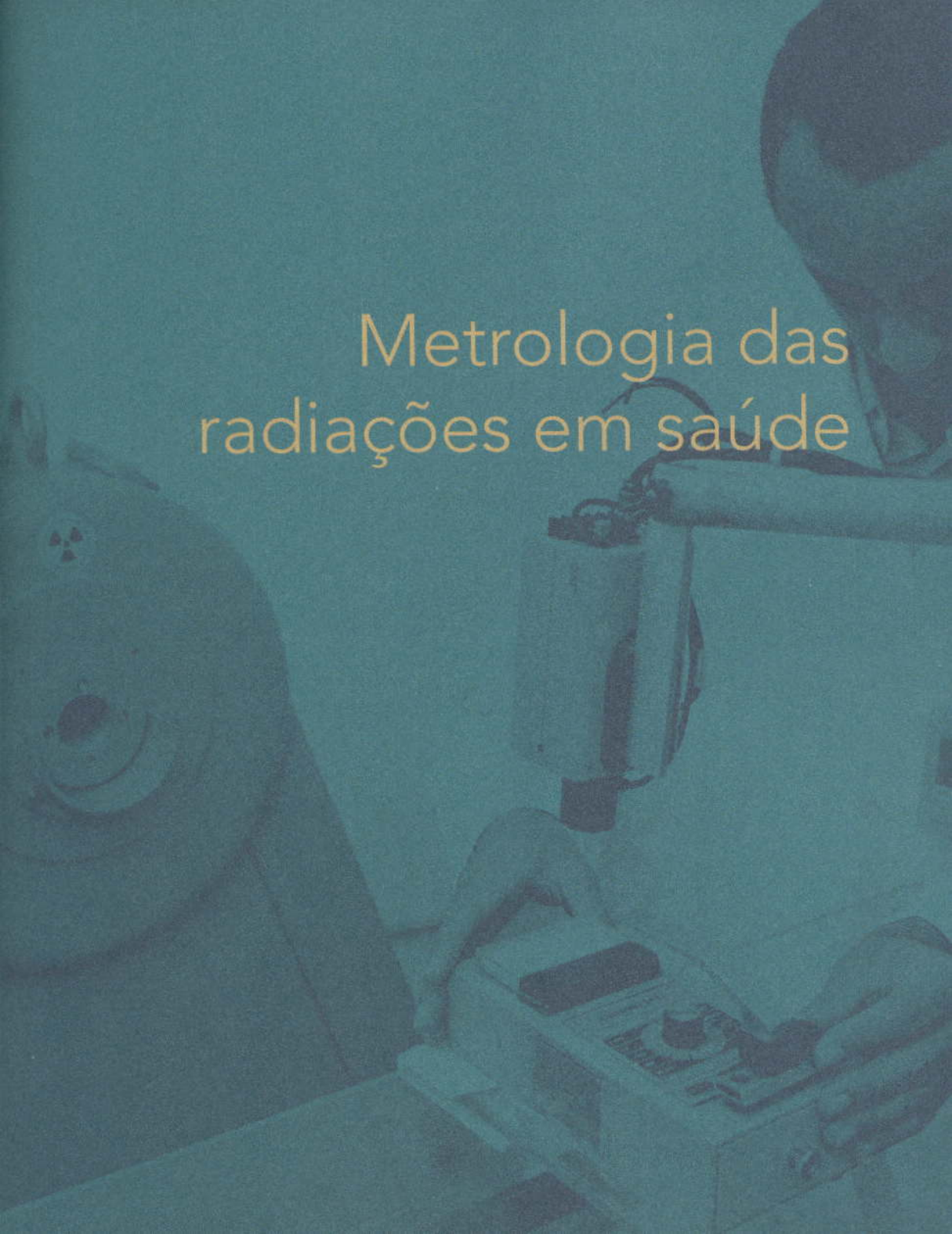
A modificação de propriedades superficiais de polímeros, além de desejável, pode ser vital no sentido de controlar as interações de superfície e as respostas indispensáveis, sobretudo na adsorção, separação e aplicações biotecnológicas. Assim sendo, a enxertia utilizando a radiação ionizante é ambientalmente correta para sintetizar novos materiais com aplicações diversas, incluindo a área da saúde, por exemplo, arcabouço para o crescimento de células autólogas.

No processo de enxertia induzida pela radiação, a energia alta da radiação ionizante é responsável pela cisão homolítica das ligações das moléculas, formação de radicais livres e reações químicas posteriores. A enxertia forma copolímeros, que torna possível desenvolver materiais híbridos, bem projetados, ao introduzir moléculas poliméricas com melhoria das propriedades superficiais de um material base com características desejadas. Os grupos funcionais novos melhoram propriedades como hidrofiliçidade, adesividade, biocompatibilidade, condutividade, antiembaçamento, entre outras. Pelos métodos convencionais de enxertia pode ser difícil ocorrer a polimerização sem resíduos de iniciadores e catalisadores. Dessa forma, a enxertia induzida pela radiação tem provado ser uma técnica prospectiva por sua simplicidade, economicamente viável, seu fácil controle e pela garantia de enxertia para um amplo intervalo de monômeros.

A enxertia por meio da radiação ionizante pode ser feita por técnicas de pré-irradiação, peroxidação ou mútua (simultânea). O sucesso das reações de enxertia por radiação depende da cadeia polimérica, moléculas e monômero, solvente e temperatura. O conhecimento dos mecanismos químicos leva aos parâmetros otimizados de processamento, incluindo dose de radiação e taxa de dose, que são específicos para cada sistema polímero/monômero com o objetivo de obter materiais novos para aplicações específicas. Nessa pesquisa são utilizados radiação gama proveniente de fontes de  $^{60}\text{Co}$  e feixe de elétrons de até 1,5 MeV provenientes de aceleradores de elétrons do IPEN. São utilizados os métodos de pré-irradiação e simultâneo, empregados como polímeros base PP/PE e celulose, além de monômeros de HEMA e GMA. Os

resultados obtidos até o momento indicam que é possível controlar a polimerização na superfície pelo método RAFT, e que o grau de enxertia aumenta com o aumento da dose de radiação e o aumento da concentração de monômero.

# Metrologia das radiações em saúde



A metrologia das radiações e seus laboratórios foram criados no IPEN no início da década de 1960, com o objetivo de dar apoio ao Serviço de Proteção Radiológica no atendimento aos requisitos internacionais de segurança radiológica. No Brasil, em 1973, foi publicada a Resolução CNEN n. 6/73, Normas Básicas de Proteção Radiológica, que citava a necessidade de calibração dos instrumentos de medição da radiação (Figura 14). Essa resolução foi revogada em 1988 e substituída pela Norma CNEN 3.01, "Diretrizes Básicas de Radioproteção".



14 Calibração de monitores portáteis com radiação gama. Crédito: Marcello Vitorino/Fullpress.

A metrologia é fundamental para que sejam mantidos níveis adequados de segurança, de forma a dar suporte a medições que abrangem as áreas da indústria, meio ambiente, agricultura, geração de energia e saúde.

No Brasil, milhões de pessoas são diagnosticadas e tratadas em procedimentos de radioterapia, radiodiagnóstico e medicina nuclear. Por ano, são 63 milhões de exames de radiodiagnóstico, 9 milhões de procedimentos em radioterapia, abrangendo 450 mil pacientes e cerca de 2 milhões de procedimentos em medicina nuclear, em um total de aproximadamente 895 mil pacientes atendidos. Portanto, é fundamental que as doses recebidas pelos pacientes estejam corretas e que equipamentos detectores de radiação realizem medições de forma precisa.

Estudos em metrologia das radiações abrangem o desenvolvimento de métodos de medição de grandezas associadas à radiação ionizante, gerando conhecimento científico e tecnológico específico. Suas ações envolvem dosimetria termoluminescente, monitoração individual, interna e externa *in vivo*, desenvolvimento de novos materiais dosimétricos, calibração de instrumentos detectores de radiação e dosímetros clínicos, dosimetria de doses altas e cálculo de dose. Também realiza serviços de monitoração ambiental e de área. Os projetos tecnológicos e científicos do IPEN nessa área visam aumentar a autonomia do Brasil em metrologia das radiações, envolvendo inclusive a aplicação estratégica em medicina nuclear.

As linhas de pesquisa mais relevantes abrangendo metrologia das radiações ionizantes no campo da saúde em desenvolvimento atualmente no IPEN são dez e estão descritas a seguir.

1. Desenvolvimento de técnicas de metrologia e desenvolvimento de simuladores na aplicação das radiações em radioterapia, radioproteção, radiodiagnóstico e medicina nuclear

Na área de radioterapia, a cada dia são apresentados novos avanços tecnológicos e inovações, e não importa a maneira como o tumor

é tratado: o que é realmente importante é que a radioterapia caminha para atingir um único objetivo, o de aumentar a taxa de cura dos pacientes submetidos a esse tratamento. Dessa maneira, para averiguar a qualidade da radioterapia, é necessário compreender que os aspectos médico, físico ou dosimétrico estejam presentes de maneira pactuada na aplicação prática. Os protocolos praticados atualmente para a dosimetria clínica estão baseados no TRS 398. Sua atualização implica procedimentos específicos visando à diminuição das incertezas na dose entregue ao paciente e incorporação pelo Sistema da Qualidade, seguindo as diretrizes da ISO 17.025, que estão presentes no TRS 469.

O objetivo principal desse projeto é o desenvolvimento de técnicas de metrologia dos instrumentos medidores de radiação, bem como o desenvolvimento de simuladores, que são utilizados em medidas de controle de qualidade em sistemas emissores de radiação na área da saúde, nos procedimentos de radioterapia, radiodiagnóstico, medicina nuclear e radioproteção.

Nesse estudo prevê-se a caracterização de uma nova fonte de  $^{60}\text{Co}$  para avaliação de dosímetros clínicos para radioterapia, utilizando as recomendações do novo protocolo da AIEA, TRS 469, que incluirá a determinação da radiação de fuga e dispersa; do tamanho e centro do feixe de radiação; o sistema de movimentação da fonte e o tempo de movimentação da fonte para a posição "exposta".

Em radiodiagnóstico, estudos recentes demonstraram que os níveis de referência em diagnóstico (NRD), praticados na área clínica para tomografia computadorizada, podem estar superestimando a dose recebida por pacientes pediátricos. Nessa área, está em desenvolvimento um protocolo de testes de desempenho em sistemas medidores e emissores de radiação X para levantamento radiométrico de sistemas clínicos. Como continuação de um projeto finalizado recentemente, no qual foi desenvolvido um simulador craniano pediátrico, levando em consideração a calota craniana, será realizado um estudo desse simulador em feixes clínicos de tomografia, variando a configuração da composição da calota craniana e também acrescentando materiais em

seu interior, que simulem o parênquima cerebral. Além disso, um novo objeto simulador de maxila e mandíbula infantil, utilizando impressora 3D para dosimetria em tomografia computadorizada de feixe cônico, será construído.

Na área de medicina nuclear, para garantir que a dose aplicada ao paciente seja adequada, tanto o serviço de medicina nuclear quanto o centro de produção precisam dispor de equipamentos de medição, ativímetros, que são utilizados para determinar a atividade dos radiofármacos. Além disso, a norma CNEN-NN-3.05, em sua última revisão, no ano de 2013, exige que cada serviço de medicina nuclear tenha pelo menos um ativímetro além dos instrumentos para proteção radiológica. Para os medidores de atividade (ativímetros) empregados nos serviços de medicina nuclear, será desenvolvida uma metodologia de calibração e controle de qualidade *in situ*. Essa metodologia deve levar em consideração todos os fatores que influenciam a medida, como a geometria do frasco, o posicionamento do radiofármaco no poço, além do manuseio por parte dos operadores com a finalidade de manter a segurança da equipe e dos pacientes. Será implantada a metodologia para os principais radiofármacos de interesse do setor de produção de radiofármacos do IPEN, que são o  $^{99m}\text{Tc}$ ,  $^{131}\text{I}$ , o  $^{201}\text{Tl}$  e o  $^{67}\text{Ga}$ .

## 2. Dosimetria clínica. Desenvolvimento de materiais e métodos dosimétricos para aplicação nas áreas de radiodiagnóstico e radioterapia

Nos últimos anos tem sido observado um grande desenvolvimento em novas tecnologias para terapia e diagnóstico, que incluem a utilização de radiações ionizantes, sendo exemplos: tomografia por emissão de pósitrons acoplada à tomografia computadorizada (PET/CT); tomossíntese de mama (TDM); mamografia por emissão de pósitrons (PEM); radioterapia com intensidade modulada (IMRT); radioterapia guiada por imagem (IGRT); radioterapia volumétrica modulada em arco (VMAT), terapias com radionuclídeos diversos etc. Nesse contexto, a adoção crescente das novas técnicas e tecnologias requer ações que

garantam melhor controle das doses entregues aos pacientes, durante os tratamentos na radioterapia.

São almejados sempre desenvolvimentos que reduzam as doses de radiação nos pacientes e trabalhadores, minimizando os riscos associados, já que, segundo o relatório UNSCEAR das Nações Unidas, essas exposições à radiação são as que mais contribuem para as doses coletivas da população mundial. Na radioterapia, os tratamentos utilizando feixes externos (teleterapia), fontes seladas (braquiterapia) ou não seladas (terapia com radionuclídeos), as doses efetivamente entregues aos órgãos de interesse, denominados volumes-alvo, e a proteção de regiões críticas de tecidos sadios requerem estudos dosimétricos individualizados, detalhados e eficientes.

Esse projeto de pesquisa envolve várias áreas de atuação, que se complementam, a saber: (a) desenvolvimento de materiais dosimétricos para aplicação na área de dosimetria clínica, envolvendo as técnicas de dosimetria 2D, empregando dosímetros de estado sólido ou líquidos, como: termoluminescência (TL), luminescência opticamente estimulada (OSL), espectrofotometria de absorção óptica (AO) e ressonância paramagnética eletrônica (RPE), empregando dosímetros de estado sólido ou líquidos; (b) desenvolvimento de materiais dosimétricos para aplicação na área de dosimetria clínica, envolvendo as técnicas de dosimetria 3D, como imagem por ressonância magnética e CT-óptico, empregando dosímetros na forma de gel ou gel polímeros; (c) desenvolvimento de objetos simuladores equivalentes a tecido impressos em impressora 3D (crânios, ossos, tireoides etc.); (d) desenvolvimento de metodologias de dosimetria das radiações de fótons e elétrons clínicos para aplicação em radiodiagnóstico, radioterapia, além de terapias com radionuclídeos diversos etc., empregando os materiais desenvolvidos; (e) desenvolvimento de metodologias para dosimetria retrospectiva em caso de acidente radiológico; e (f) desenvolvimento de metodologias para dosimetria de doses altas aplicadas à saúde (esterilização de equipamentos, materiais de uso médico, bolsas de sangue etc.). Essa pesquisa envolve várias parcerias, como: Hospital Israelita Albert Einstein,

Hospital do Servidor Público Estadual/SP, Hospital Sírio-Libanês/SP, UNIFESP e Hospital Geral de Araguaína/TO.

### 3. Caracterização da resposta de detectores tipo MOSFET para dosimetria *in vivo* em radioterapia

A radioterapia é o tratamento no qual se utiliza radiação ionizante para destruir um tumor ou inibir seu desenvolvimento. O tratamento radioterápico ideal busca entregar a maior dose possível às células tumorais com o menor dano às células sadias circunvizinhas. Uma das ferramentas usadas por programas de garantia de qualidade é a dosimetria *in vivo*, principalmente em tratamentos por irradiação de corpo total (*total body irradiation*, TBI) e estimativas de dose em estruturas críticas por incertezas no posicionamento do paciente, ou na ausência de sistemas de cálculo de dose precisos.

Para tanto, os detectores comumente escolhidos são os dosímetros termoluminescentes (TLDs) e os diodos. Contudo, um tipo de dosímetro que vem sendo cada vez mais utilizado é o transistor de efeito de campo metal-óxido-semicondutor (*Metal-Oxide-Semiconductor Field Effect Transistor*, MOSFET), que atende todas as características necessárias para a realização de uma dosimetria *in vivo*, uma vez que possui tamanho pequeno, boa precisão e viabilidade de medida, além de fácil manuseio. Quando comparado ao TLD, o dosímetro MOSFET apresenta vantagens como a possibilidade de administração de dose em tempo real e a fácil obtenção dos dados. Já uma dosimetria por TLD tende a ser um processo demorado e trabalhoso, pois demanda uma preparação anterior à radiação, além de uma etapa posterior de extração dos dados. Por outro lado, quando se compara o dosímetro MOSFET a detectores semicondutores, a principal vantagem é seu tamanho pequeno, sendo o MOSFET cerca de 100 vezes menor do que um diodo. Todas essas características tornam o dosímetro MOSFET uma ferramenta viável para aplicações como dosimetria *in vivo*, dosimetria de campos pequenos e de braquiterapia, por exemplo.

Além disso, a leitura de dose *on-line* permite a antecipação de pequenas alterações anatômicas do paciente, além de possibilitar a correção na caracterização dos parâmetros físicos utilizados durante a irradiação.

O objetivo principal dessa pesquisa compreende a caracterização dos diversos fatores que influenciam o comportamento da resposta de detectores do tipo MOSFET, aumentando, portanto, a acurácia de medidas experimentais de dose *in vivo* em diversas situações na radioterapia. Dessa forma será possível avaliar a eficácia dos procedimentos atuais empregados na prática clínica e propor novos processos e soluções.

Os avanços tecnológicos dos modernos sistemas de planejamento em radioterapia aliados à disponibilidade de imagens médicas de alta resolução permitem que as irradiações sejam planejadas na prática clínica de forma acurada em tempos razoáveis. Por outro lado, pequenas mudanças na anatomia do paciente ou desvios na caracterização dos parâmetros físicos podem acarretar erros consideráveis. Nesse contexto, cresce a importância da realização de medidas experimentais de dose *in vivo* em tempo real, não comumente realizadas na prática clínica, em razão das dificuldades experimentais e da alta incerteza dos resultados.

Dentre as possíveis soluções para executar esse tipo de medida, detectores do tipo MOSFET se destacam por serem capazes de fornecer respostas imediatas, possibilitando o monitoramento da dose entregue ao paciente durante o tratamento e a ausência de doses adversas não planejadas. Além disso, a pequena dimensão desses detectores permite dosimetria em campos pequenos e medidas de dose superficiais. A praticidade de uso em conjunto com suas características favoráveis faz desses detectores excelentes candidatos para monitoramento de dose em procedimentos clínicos em radioterapia. Todas as vantagens citadas motivam o estudo mais detalhado da resposta desses detectores, em diferentes campos de radiação, com o objetivo maior de avaliar a acurácia dos procedimentos atuais adotados na prática clínica, permitindo a ampliação de sua utilização. Há parcerias com a Beneficência Portuguesa de São Paulo e o Instituto de Estudos Avançados (IEAv).

4. Estudo da resposta do sistema dosimétrico 3D (*ArcCHECK*) para uso em controle de qualidade em terapias com arco dinâmico volumétrico (VMAT)

Recentemente, um novo sistema de dosimetria 3D chamado *ArcCHECK* (*Sun Nuclear Corporation*) foi desenvolvido e comercializado principalmente para garantia de qualidade (GQ) em terapias com arco dinâmico volumétrico (VMAT). É composto por uma matriz de 1.386 diodos *SunPoint*® fixos (tamanho 0,8 × 0,8 mm) dispostos em um padrão helicoidal dentro de uma estrutura cilíndrica, formando uma malha de detecção helicoidal. A cavidade central é projetada para inserir vários acessórios, como um núcleo sólido homogêneo, bem como um núcleo de dosimetria com câmaras de ionização. O sistema tem sido objeto de estudos de dosimetria para uso rotineiro em procedimentos de GQ de clínicas de Radioterapia.

Seria muito útil criar um modelo virtual que representasse o sistema real, por meio do uso de ferramentas de algum *software*, com o propósito de realizar estudos de dosimetria para comissionamento e implementação de um sistema de dosimetria. O presente trabalho objetiva o estudo e a caracterização do sistema dosimétrico 3D *ArcCHECK* para uso em controle de qualidade em radioterapia com arco dinâmico. Pretende-se também desenvolver um modelo computacional do *ArcCHECK* para simulações de Monte Carlo para cálculo de dose e comparação com os dados experimentais. Na condução da pesquisa, utilizar-se-á o sistema *ArcCHECK*, no qual serão realizadas medidas experimentais de dose para caracterização e procedimentos que consideram as fases I e II no processo de validação, para potencial uso em controle de qualidade. As irradiações serão realizadas com o auxílio de aceleradores dos hospitais parceiros envolvidos no projeto e que possuem a capacidade para terapia em arco dinâmico. Os parceiros nas pesquisas são o Hospital Beneficência Portuguesa de São Paulo e o Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP.

## 5. Estudo de transporte de prótons aplicado à medicina nuclear e à radioterapia

Essa pesquisa visa ao estudo do transporte de prótons aplicado à simulação de ciclotrons, para produção de radioisótopos para medicina e também para estudos em protonterapia. Existe a intenção de uma colaboração futura com a empresa CicloBrás, em Campinas, que produz radioisótopos, e com a Universidade de Maastricht, na Holanda, que atualmente está construindo uma instalação para protonterapia.

Com esse projeto pretende-se iniciar um estudo sobre transporte de prótons, especificamente na parte da interação do próton com a matéria, seja para fins de estudo de equipamento, tais como ciclotron, aceleradores, seja para sistemas de detecção de radiação. Envolve ainda a dosimetria de campos mistos (prótons, nêutrons, gama e elétrons, entre outros). O estudo contempla também simulações computacionais usando códigos de Monte Carlo e eventuais medidas experimentais em instalações em que haja feixes de prótons, tais como ciclotron e acelerador de prótons. Estudos dosimétricos em protonterapia com imagens médicas e sistemas de planejamento podem ser considerados.

## 6. Dosimetria termoluminescente em campos mistos

Objetiva-se o estudo de campos mistos de nêutrons e gamas, com dosímetros (TLD) de LiF, que têm-se mostrado uma ferramenta útil, devido ao fato de apresentarem tamanho reduzido, sem necessidade de cabeamento, com possibilidade de serem reutilizados e também devido ao fato de que diferentes tipos de dosímetros apresentam diferentes sensibilidades aos componentes do campo de irradiação. Os TLD são amplamente utilizados na dosimetria em diversas áreas para dosimetria gama, e seu uso há algum tempo vem sendo realizado para a dosimetria de campos de radiação mistos de nêutrons e gamas.

Os estudos de TLD para a dosimetria de campos mistos de nêutrons e gamas começaram na década de 1970, na busca de melhor

compreensão dos dosímetros de albedo. Porém, avanços nessa área são necessários, conjuntamente com a necessidade de realizar a correta dosimetria dos feixes de radiação mistos nas instalações de NCT (*Neutron Capture Therapy*). Várias instalações de NCT ao redor do mundo passaram então a estudar o uso dos TLD como alternativa para a realização dessa dosimetria, incluindo o próprio IPEN. Também existem estudos dos TLD para uso em instalações de NCT desde o início dos anos 2000, com a finalidade de verificar as respostas termoluminescentes dos TLD de LiF para a dosimetria de campos mistos de nêutrons e gamas. Planeja-se, nessa pesquisa, utilizar os TLD de LiF para a dosimetria de campos de irradiação mistos de instalações nucleares, caso da instalação de NCT no reator IEA-R1 do IPEN.

7. Desenvolvimento de sistema de planejamento e análise comparativa dos diferentes sistemas em radioterapia e medicina nuclear

Objetiva-se, nesse desenvolvimento, a criação de um sistema de planejamento para tratamento em radioterapia, que utiliza o método de Monte Carlo. Os planejamentos de tratamento braquiterápicos são realizados seguindo o formalismo definido pelo TG-43U1, que considera um meio infinito de água, desconsiderando o efeito da composição dos tecidos, dos aplicadores e das dimensões do corpo humano. O modelo vem sendo substituído por modelos mais acurados, com distribuições de dose obtidas por meio de MBDCA (*model-Based Dose Calculation Algorithms*). Entretanto, existem diversas áreas em que consideráveis esforços são necessários para a futura implementação desses algoritmos na prática clínica, como descrito pelo TG-186.

O AMIGOBrachy (*Algorithm for Medical Image-based Generating Object - Brachytherapy Module*) enquadra-se nessa categoria e foi desenvolvido sob a plataforma MATLAB versão 8.0 (Mathworks Inc., Natick, Massachusetts, EUA), em razão do grande número de informações necessárias para simular tratamentos braquiterápicos, os quais podem envolver, por exemplo, centenas de posições de parada, diferentes tipos

de aplicadores, reconstrução de imagens tridimensionais e segmentação de tecidos. A primeira versão do *software* permite criar imagens, contornos, posições de parada ou importar planejamentos oriundos de sistemas de planejamento comerciais, no formato DICOM, possibilitando a simulação de casos clínicos de maneira simples e rápida, requisitos necessários para uma possível implementação na prática clínica. O *software* é composto por 8 módulos principais e pode importar casos clínicos criados com sistemas de planejamento comerciais ou até mesmo criar um novo planejamento por meio de ferramentas de contorno, identificação automática/manual de agulhas e ferramentas para visualização em 2D e 3D. Há colaboração com a Universidade de Maastricht, Holanda, nessa pesquisa.

#### 8. Dosimetria em radiodiagnóstico: tomografia computadorizada e mamografia

Os objetivos desse projeto são desenvolver e estabelecer um sistema padrão primário para feixes de raios X na qualidade de tomografia computadorizada, utilizando uma câmara de extrapolação. Também se inclui nesse trabalho o desenvolvimento de um detector do tipo TH-GEM para feixes de raios X de baixas e médias energias, bem como sua caracterização.

Um dos fatores mais intrinsecamente ligados à radiação ionizante é seu uso na prática médica, como exames de diagnóstico, tratamentos, proteção radiológica etc. O objetivo da proteção radiológica é conhecer a dose recebida pelos pacientes que se submetem a essas práticas, que são responsáveis pela maior contribuição do uso de radiação na população mundial. Portanto, a verificação das doses de radiação nos procedimentos dos exames deve ser realizada com a maior precisão possível. Sabendo disso, a metrologia tem por objetivo garantir a qualidade dos instrumentos de medição de radiação por meio da realização da calibração dos instrumentos de medição. A calibração é uma comparação entre os valores obtidos por um instrumento a ser calibrado e um

sistema padrão de referência. Esse sistema padrão deve garantir que a qualidade da resposta do detector ou de uma fonte radioativa seja adequada. Nesse trabalho, o intuito é estabelecer um sistema padrão primário para o IPEN, fazendo uso de uma câmara de extrapolação para feixes de raios X de tomografia computadorizada (TC). Para que a câmara possa servir para estabelecer um padrão primário, ela deve ser capaz de determinar o *kerma* no ar dos feixes de radiação. Portanto, diversos fatores de correção devem ser determinados, e podem ser obtidos experimentalmente ou por meio de simulações computacionais utilizando o código MCNP5 (Monte Carlo).

O detector TH-GEM (*Thick GEM*) é uma variação ampliada do detector GEM. É constituído por uma placa espessa perfurada em um padrão milimétrico, com revestimento metálico em ambos os lados e imersa em um gás rarefeito. Um potencial elétrico é aplicado entre os revestimentos, criando uma configuração de campo elétrico intenso dentro de cada orifício, multiplicando os elétrons liberados pelas ionizações induzidas pela radiação ionizante incidente no gás através do processo de avalanche das ionizações.

Uma grande vantagem dos detectores do tipo GEM e TH-GEM é a fácil adaptação de sua geometria a teoricamente qualquer necessidade. Esse tipo de detector tem encontrado aplicações crescentes na área da saúde, devido à simplicidade de sua construção, baixo custo, robustez e diversidade de forma. Um dosímetro com tais qualidades é bastante almejado em muitas aplicações, por exemplo, em medicina diagnóstica e medidores nucleares em geral. Soma-se a isso a alta sensibilidade proporcionada pelos detectores GEM, que podem estender suas aplicações em dosimetria de baixas doses. Um dosímetro baseado no princípio de funcionamento dos detectores do tipo GEM, na faixa de raios X de baixa energia, ainda é inédito na literatura científica. Nesse projeto, é proposto o estudo da viabilidade de utilização dos detectores do tipo TH-GEM em aplicações dosimétricas para raios X de baixas e médias energias. Este estudo será pautado em simulações computacionais para otimização das condições de detecção. Objetiva-se, também, a construção e a

caracterização de um protótipo de detector do tipo TH-GEM, portátil, com características adequadas para o uso dosimétrico. Nesse desenvolvimento há uma parceria com o Instituto de Física da Universidade de São Paulo (IFUSP).

#### 9. Avaliação de materiais dosimétricos para doses altas

Objetiva-se, nesse projeto, alcançar melhores condições e características para um dosímetro mais adequado para aplicação em dosimetria de doses altas de irradiadores gama. A estratégia seria a aplicação da radiação ultravioleta à técnica de emissão exoeletrônica termicamente estimulada (TSEE), permitindo a verificação da emissão exoeletrônica termicamente estimulada fototransferida (PTTSEE, ou seja, *photo-transferred TSEE*).

A tecnologia do processamento da radiação vem sendo empregada para aplicações diferentes, principalmente na área médica, e para cada finalidade é utilizada uma faixa de dose absorvida específica. Os irradiadores de grande porte são aqueles utilizados para essa finalidade, podendo apresentar fontes de radiação gama ou feixes de elétrons; os irradiadores gama são os mais utilizados (com fontes de  $^{60}\text{Co}$  ou  $^{137}\text{Cs}$ ). A termoluminescência (TL) e a luminescência opticamente estimulada (OSL) são técnicas luminescentes que já foram utilizadas nos últimos anos para o estudo da resposta de dosímetros de estado sólido, e alguns materiais já foram testados por outros grupos de pesquisa para dosimetria da radiação gama. Entretanto, estes apresentam alto desvanecimento de sinal em um curto intervalo de tempo e falta de linearidade em um intervalo amplo de dose absorvida. A emissão exoeletrônica termicamente estimulada (TSEE) consiste em outra técnica de verificação do sinal de materiais, em que elétrons de energias baixas são emitidos da superfície de materiais isolantes. A emissão ocorre por meio de estimulação térmica. O objetivo principal desse trabalho consiste na caracterização de materiais (comerciais e naturais) em feixes de radiação gama de  $^{60}\text{Co}$ , por meio de diferentes parâmetros dosimétricos, utilizando a

técnica de TSEE. Os materiais também serão expostos a feixes de radiação ultravioleta (RUV) e serão caracterizados por meio dos estudos de variação da resposta com o comprimento de onda e irradiância. Dessa forma, será analisada a possibilidade de aplicação da técnica de emissão exoeletrônica termicamente estimulada fototransferida (PTTSEE) para comparação com a técnica convencional de TSEE, de maneira a alcançar respostas com maior intervalo de linearidade. Assim, os resultados da pesquisa serão mais úteis para a dosimetria de doses altas dos irradiadores gama, utilizados para esterilização de material cirúrgico e para outras aplicações em saúde.

Na sequência, será realizada uma intercomparação com o material utilizado nos procedimentos atuais de dosimetria dos irradiadores gama do IPEN. O material com melhores condições dosimétricas será aplicado em irradiadores de grande porte de alguns institutos e centros tecnológicos do Brasil. O projeto conta com a parceria do FUNDACENTRO, do Ministério do Trabalho e Emprego.

#### 10. Estabelecimento de um sistema padrão primário para radiação beta e sua caracterização

Os dois objetivos principais desse trabalho consistem no estabelecimento de um sistema de padronização primária em radiação beta (para fontes de  $^{85}\text{Kr}$  e  $^{147}\text{Pm}$ ) no IPEN, utilizando uma câmara de extrapolação Böhm, para a determinação de taxas de dose absorvida no ar de fontes de radiação beta, como padrão primário e a caracterização e o estabelecimento de um sistema de transferência para intercomparações entre os padrões de radiação beta.


O problema da dosimetria beta está ligado a indivíduos que manipulam fontes radioativas a pequenas distâncias ou ao contato, principalmente em procedimentos médicos. O objetivo da dosimetria beta é a determinação da dose na pele e no cristalino do olho. Para alcançar esse objetivo, é necessária a calibração correta das fontes que vão servir como padrões para uma calibração posterior de dosímetros de radiação

beta. As medições feitas com dosímetros e instrumentos devem ser rastreadas segundo os sistemas padrões nacionais (primários ou secundários) do país.

Não há laboratórios de padronização primária na América Latina que ofereçam serviços de calibração de fontes de radiação beta. Assim, com o estabelecimento da padronização desejada, o IPEN poderá atender às necessidades de calibração de dosímetros de radiação beta, não só no país, mas na América Latina.

Além disso, é necessário estabelecer um método alternativo de medição/calibração da radiação beta. Os objetivos específicos do trabalho são, portanto: determinação de taxas de dose absorvida no ar e no tecido das fontes de  $^{85}\text{Kr}$  e  $^{147}\text{Pm}$  do sistema padrão secundário BSS2 do LCI e a simulação pelo método Monte Carlo do funcionamento da câmara de extrapolação e das fontes beta para a determinação de parâmetros físicos difíceis ou impossíveis de medir na prática, bem como fatores de correção e a dose absorvida no tecido. O trabalho tem realização conjunta com a Universidade Federal de Uberlândia.



 IPEN desenvolve competência científica e tecnológica em lasers de estado sólido, visando a sua aplicação na área de saúde, na área de processamento de materiais, em monitoração ambiental e na área nuclear, formando recursos humanos e gerando produtos e serviços. Na década de 1980, o IPEN dominou a técnica de crescimento do cristal YLiF<sub>4</sub> dopado com o íon terra-rara neodímio. Esse cristal foi então utilizado como elemento laser ativo nos primeiros lasers de estado sólido produzidos no país. Eram lasers pulsados e contínuos, com projeto e componentes 100% nacionais.

Na sequência, foram produzidos cristais dopados com hólmio que deram origem a lasers com emissão em comprimento de onda de 2 microns, mais adequados a aplicações médicas e odontológicas. Assim surgiram as primeiras aplicações em odontologia e em processamento de materiais. O IPEN, portanto, é pioneiro não somente no desenvolvimento de cristais fluoretos laser ativos e protótipos laser de estado sólido no país, como também de suas aplicações nas áreas da odontologia e de processamento de materiais.

A expansão natural da tecnologia laser trouxe uma demanda muito grande ao IPEN no sentido de oferecer serviços relacionados a processos laser. Surgiram demandas em diversas aplicações em saúde, incluindo odontologia. O crescimento da demanda, e o amadurecimento da tecnologia, fez surgir a empresa Lasertools Tecnologia Ltda., *spinoff* que passou a fornecer serviços rotineiros e de desenvolvimento relativos a esses processos por meio de uma parceria com o IPEN.

O IPEN foi o primeiro no país a oferecer um Programa de Mestrado Profissional em Lasers em Odontologia, juntamente com a Faculdade

de Odontologia da USP, que formou mais de 160 mestres e impulsionou a indústria nacional de lasers para o setor. Foram desenvolvidos vários métodos terapêuticos atualmente em uso clínico no Brasil, como a prevenção da cárie dental por laser, a redução microbiana na endodontia e periodontia por lasers em baixa intensidade, assim como em alta intensidade, a fluxometria laser Doppler, a mitigação dos efeitos deletérios da radioterapia e quimioterapia, notadamente da mucosite oral, entre outros.

As aplicações em odontologia também logo se expandiram para outras áreas da saúde, e foram englobadas nas chamadas aplicações de biofotônica. As principais atividades são na caracterização de tecidos biológicos por métodos ópticos, culminando no desenvolvimento de processos diagnósticos e terapêuticos com o uso de lasers ou outras técnicas da biofotônica.

Atualmente o grupo contribui para a implantação e/ou otimização de novas técnicas terapêuticas e diagnósticas, utilizando nanomateriais. O grupo dessa área no Instituto atua de forma multidisciplinar e interdisciplinar entre Física, Medicina, Odontologia, Fisioterapia, Química, Biologia e Ciência dos Materiais.

As linhas de pesquisa mais relevantes abrangendo aplicações de laser no campo da saúde atualmente em desenvolvimento no IPEN são doze e estão descritas a seguir.

#### 1. Biofotônica e lasers em medicina e odontologia

Os dois objetivos principais desse trabalho são: (a) a utilização de lasers de alta intensidade para a irradiação de tecidos biológicos visando caracterizá-los opticamente e, ainda, (b) o desenvolvimento de novos métodos de diagnóstico e terapia.

A biofotônica é um excitante campo de pesquisa interdisciplinar que estuda a interação de fótons com estruturas biológicas por meio de imagens espectrais de células e tecidos. Desde 1992, as pesquisas em biofotônica e lasers no IPEN têm fornido a sociedade com uma gama

de aplicações, desde pesquisa médica fundamental até diagnóstico, terapia e cirurgia.

Radiações ionizantes, como radiação de raios X ou gama, são bem reconhecidas como métodos de diagnóstico e tratamento eficazes para doenças malignas, bem como para a esterilização de tecidos. No entanto, essas radiações podem modificar quimicamente o tecido-alvo, e as alterações podem afetar a morfologia, a cristalinidade, a cicatrização e as propriedades mecânicas dos tecidos irradiados, sendo capazes de quebrar cadeias polipeptídicas e causar a liberação de radicais livres por radiólise da água.

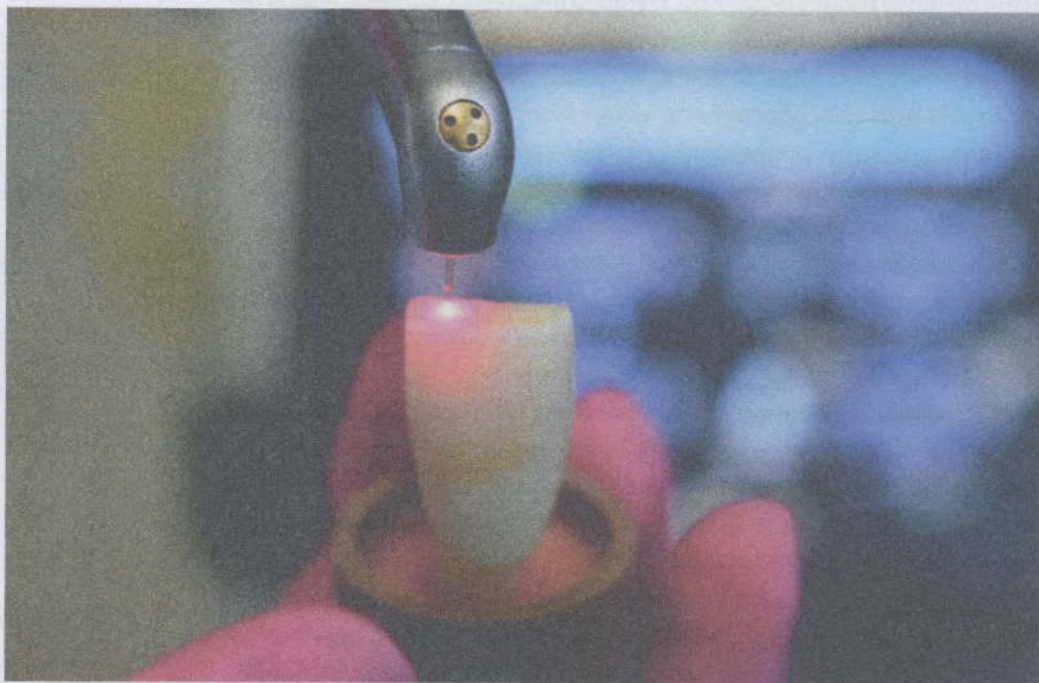
Um efeito colateral da quimioterapia e radioterapia de cabeça e pescoço é a mucosite oral. Essa comorbidade grave resulta em xerostomia, úlceras, infecções secundárias e dor, que podem alterar e até forçar a interrupção das terapias direcionadas ao tumor. Já estudos de laserterapia de baixa intensidade (LILT), comparando dois comprimentos de onda diferentes, 660 nm e 780 nm, em modelo animal, estão em andamento para demonstrar, de forma inédita, por imuno-histoquímica, a razão pela qual são observados os bons efeitos clínicos da LILT na resolução da mucosite. No caso específico do tecido ósseo, no IPEN são investigadas as mudanças promovidas por diferentes doses de radiação ionizante nesse tecido, usando testes mecânicos de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier. Verificou-se que a radiação ionizante induz alterações nas moléculas de colágeno e reduz a densidade das ligações cruzadas intermoleculares.

Ao longo das últimas décadas, o declínio na cárie dentária e também a erosão têm sido atribuídos ao uso extensivo de fluoreto. Embora esse seja o tratamento mais poderoso para prevenir a cárie, o desenvolvimento de novos métodos para controlar completamente essa doença ainda é necessário, principalmente nos países em desenvolvimento. Assim, lasers, combinados ou não com flúor, foram testados em dentes para melhorar as propriedades do esmalte dental, a fim de aumentar sua resistência à desmineralização. O IPEN investiga as alterações composicionais e cristalográficas *in vitro* no esmalte, quando irradiadas

**15** Irradiação de esmalte bovino com laser Er,Cr:YSGG para criação de protocolo de prevenção de erosão dentária. Crédito: E. R. Paiva.

por Er,Cr:YSGG, Er:YAG ou Nd:YAG, sua resistência à desmineralização quando a irradiação está associada ao fluoreto, formação de material semelhante ao CaF e retenção (Figura 15).

A utilização dos lasers de alta intensidade tem sido muito estudada na prevenção do surgimento de lesões cariosas e de erosão tanto em esmalte quanto em dentina, seja atuando isoladamente ou em associação com o fluoreto. Quando empregada de forma isolada, a irradiação com lasers de alta intensidade pode promover modificações morfológicas, químicas e estruturais na superfície dos tecidos duros dentais, reduzindo o conteúdo orgânico, removendo íons carbonato, água e propiciando a formação de novas fases cristalinas, com cristais de tamanho aumentado. As modificações promovem um aumento na resistência do esmalte dental à desmineralização. Os resultados promissores obtidos



na utilização da irradiação laser para prevenção ou paralisação de lesões de cárie incipientes motivam as pesquisas que relacionam o uso dessa tecnologia para prevenção do surgimento ou mesmo paralisação do processo de erosão ácida. Devido aos efeitos térmicos promovidos pelo laser apenas na superfície dental, há mudança no tamanho e conformação dos cristais que compõem a dentina, e dessa forma a erosão seria diminuída ou cessada. Os estudos com o laser de Nd:YAG já chegaram ao estágio de uso clínico.

No campo de biofotônica, o IPEN mantém diversas colaborações externas, a saber: Universidade de Durham, no Reino Unido; Universidade do Texas Health, em Houston, EUA; Departamentos de Dentística, Endodontia e Patologia da FOU SP; Engenharia Biomédica, UFABC; Física, UFABC; Física da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP; Odontologia da Unesp de São José dos Campos/SP; Incor/SP; Instituto Brasileiro de Controle do Câncer, IBCC; Física da Universidade Federal de Uberlândia; Faculdade de Odontologia, ASCES, Caruaru/PE; Faculdade de Odontologia da UFPE e Instituto de Física da UFPE.

2. Diagnóstico de doenças por espectroscopia de absorção no infravermelho (imagem espectral por microFTIR) por meio da caracterização óptica de tecidos biológicos

Objetiva-se, nessa pesquisa, aplicar a espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier para discriminar tecido saudável de câncer de tireoide, de pulmão e de pele em estágio avançado e lesões pré-malignas, assim como de tecido neoplásico de pele submetido a terapia fotodinâmica (PDT).

As técnicas de espectroscopia vibracional têm obtido grande sucesso na caracterização de materiais de origem biológica e fornecem importantes informações bioquímicas do tecido analisado. Essas técnicas não requerem coloração ou marcação específica e são capazes de fornecer informações bioquímicas sobre colágeno, ácidos nucleicos, proteínas e lipídios através de suas vibrações moleculares.

A técnica de espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) é uma técnica analítica que se baseia nas vibrações moleculares ativas no infravermelho, presentes na amostra para descrever seu perfil químico. Diversos estudos prova de conceito realizados ao longo dos últimos anos têm demonstrado que tal identidade química é uma possível ferramenta de diagnóstico molecular, não subjetiva e que não requer o uso de marcadores químicos externos. Particularmente, as informações bioquímicas contidas em dados espectrais têm sido bem-sucedidas na discriminação de tecido benigno de câncer, indicando o potencial da técnica como ferramenta de diagnóstico. Contudo, tais estudos têm focado o uso da técnica para discriminar tecido saudável de tumores malignos em estágio avançado, os quais são facilmente diagnosticados pelas técnicas *golden standard*, atualmente utilizadas na clínica. Dessa maneira, o projeto tem como objetivo utilizar a espectroscopia FTIR para discriminar estágios pré-malignos da doença.

Nesse trabalho, há parcerias com a Universidade de Northeastern, em Boston, EUA; o Instituto de Tecnologia de Dublin, Irlanda, e com o Imperial College London, no Reino Unido.

### 3. Termografia no infravermelho para a área da saúde

Nessa pesquisa destaca-se como objetivo principal a monitoração da variação de temperatura por meio de termografia no infravermelho, em tecidos biológicos, durante a aplicação de radiação ionizante ou irradiação com lasers de alta intensidade na região do infravermelho. Consideram-se também demais tratamentos que causem variação de temperatura no tecido e que possam ser deletérios para sua vitalidade.

Diversos procedimentos médicos e odontológicos tanto para diagnóstico como para tratamento podem causar efeitos térmicos altamente nocivos, com consequências irreversíveis ao tecido alvo ou regiões circunvizinhas. Conhecer os mecanismos de transferência de calor em tecidos biológicos é, portanto, cada vez mais importante. A condutividade e

a difusividade térmica são essenciais para o desenvolvimento de modelos de hipertermia ou técnicas de ablação térmica, entre outros modelos, para terem resultados válidos. Modelos que dependem do conhecimento dessas propriedades térmicas são os de ferimentos térmicos, como queimaduras tanto por calor quanto por frio, e também melhorar a aplicação de agentes de crioproteção para preservação de tecido. Com o avanço da tecnologia, o laser vem sendo mais usado em tratamentos odontológicos e médicos, tanto estéticos como cirúrgicos.

Na medicina o laser é utilizado principalmente para corte e ablação de tecidos. Como exemplos de aplicações de lasers, encontram-se cirurgias cardiológicas, neurológicas, endoscópicas, estéticas em pele, dentes e ossos, sendo utilizados lasers de alta densidade de energia. Consequentemente, há um aumento de temperatura na região irradiada, assim como nas regiões adjacentes.

O estudo de variação de temperatura em tecidos biológicos por meio da termografia no infravermelho, durante a irradiação com laser ou tratamento endodôntico com diferentes equipamentos, (não apenas lasers) é útil para determinar parâmetros de irradiação para a obtenção de um protocolo clínico seguro e eficiente para o tratamento proposto. O estudo de temperatura em tecidos moles *in vivo* pode ser realizado em animais, após a submissão a radiação ionizante como na braquiterapia, e se refere à detecção precoce do processo inflamatório para permitir rápida intervenção e tratamento. O estudo em pacientes seria então o último passo, realizado apenas para comprovar que os métodos terapêuticos desenvolvidos não causam iatrogenias.

Nesse trabalho há parcerias com a Universidade de Durham, no Reino Unido; a Universidade da Califórnia, em Irvine, EUA, e a Universidade do Texas Health, em Houston, EUA.

#### 4. Nanopartículas em biomedicina e diagnóstico

Esse projeto abrangente contempla o desenvolvimento de processos terapêuticos e diagnósticos, mediados por sistemas nanoestruturados.

A nanotecnologia envolve a criação de qualquer material, sistema ou dispositivo, por meio da manipulação da matéria em escala nanométrica, medindo de 1 a 100 nm. É uma tecnologia que já vem sendo desenvolvida há algum tempo, e que tem na área da saúde sua maior aplicação e progresso nos últimos cinco anos. Além disso, o que os torna especiais é o fato de que esses materiais, desenvolvidos em escala tão pequena, passam a apresentar propriedades físicas, químicas e biológicas diferentes.

O redimensionamento de muitos materiais, desde o mundo macroscópico até o mundo da nanoescala, foram fatores-chave para o sucesso da nanotecnologia. Atualmente, a aplicação da nanotecnologia oferece possibilidades interessantes para melhorar as abordagens terapêuticas e diagnósticas do câncer e infecções de diferentes etiologias.

Desenvolvimentos recentes em nanotecnologia permitiram melhorar o uso da terapia fotodinâmica (PDT), tanto para o câncer quanto para infecções. De fato, principalmente para o câncer, o sucesso da PDT pode ser parcial devido à dificuldade na administração de fotossensibilizadores (FS) com baixa solubilidade em água, o que compromete o uso clínico de diversas moléculas. A nanotecnologia é uma abordagem interessante para a PDT, principalmente porque nanopartículas (NPs) (orgânicas e inorgânicas) podem ser guiadas para aumentar a concentração do FS no alvo e diminuir efeitos tóxicos nas células sadias e no tecido.

Diferentes tipos de nanopartículas podem ser funcionalizados (marcados com moléculas específicas) para sua utilização em biomedicina, seja com função diagnóstica ou terapêutica. Dentre os tipos, destacam-se as metálicas (prata: Ag; ouro: Au), cristalinas (preparadas por dopagem com terra-rara), superparamagnéticas (óxido de ferro:  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) ou semicondutoras (pontos quânticos, do inglês *quantum dots*, QD). Dependendo da interação entre os sistemas nanoestruturados e fármacos, as NP descritas podem atuar de forma ativa (como um fármaco) ou passiva (sistemas de veiculação de fármacos). De modo geral, podemos descrever quatro tipos diferenciados de interações:

1. O fármaco é incorporado a um sistema nanoestruturado de origem polimérica (sintética ou natural). Nesse caso, as NP atuam como sistema de veiculação de fármacos e são utilizadas como sistemas transportadores com elevada especificidade. O ativo de interesse deve ser previamente incorporado às matrizes biocompatíveis e biodegradáveis, por processos específicos durante seu desenvolvimento, como acontece, por exemplo, com sistemas lipossomais ou poliméricos, ou copoliméricos, como os derivados dos ácidos poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA), quitosana e celulose.
2. Existe uma associação covalente entre o fármaco que está ligado covalentemente à superfície da NP. Nesse caso, a nova molécula apresenta, em muitos casos, uma melhora nas propriedades fotoquímicas, fotofísicas e fotobiológicas em relação ao fármaco original não associado. Exemplo dessas NP são as superparamagnéticas e as cristalinas de conversão ascendente ou descendente.
3. O fármaco encontra-se associado, por atrações e interações eletrostáticas fracas, ou por afinidade, aos sistemas de veiculação, sendo que o conjunto apresenta melhora em relação aos efeitos terapêuticos. Um exemplo desse tipo de interação pode ser observado na associação do fármaco com NP metálicas (Au e Ag) e/ou semicondutoras (QD), nos quais se observa um aumento da eficiência fotodinâmica, seja no tratamento do câncer ou de patologias infecciosas. Todos os tipos de NP citados anteriormente também podem ser utilizados como ferramenta diagnóstica para aumento do sinal em técnicas de imagem e biossensores.
4. Neste último modelo, as NP atuam como um fármaco diretamente. A NP é o próprio fármaco capaz de desencadear a resposta biológica/médica desejada.

Essa linha de pesquisa explora o potencial de utilização de diferentes sistemas nanoestruturados para tratamento e diagnóstico do câncer e infecções de origem variada em modelos pré-clínicos. Serão desenvolvidos processos terapêuticos e diagnósticos mediados por diferentes

sistemas nanoestruturados. Serão utilizadas nanopartículas de óxido de ferro superparamagnéticas revestidas de sílica (SPIONs), contendo fotossensibilizador em terapia fotodinâmica antimicrobiana. Será explorado o fenômeno da ressonância plasmônica localizada de superfície em nanopartículas metálicas (prata e ouro) para otimização da inativação fotodinâmica de diferentes microrganismos. Também serão utilizadas nanopartículas de quitosana como doadora de óxido nítrico para inativação de parasitas do gênero *Leishmania*. Nanoemulsões contendo fármaco fotossensibilizador serão desenvolvidas para inativação fotodinâmica de fungos. O uso de pontos quânticos como sistema teranóstico será investigado. Também é prevista a utilização de nanopartículas de conversão ascendente e descendente para destruição de células tumorais. Há diversas parcerias nesses tópicos, como com a UFABC, UNIFESP, UFPE e UFT.

#### 5. Terapia óptica não térmica

Essa pesquisa visa investigar e desenvolver processos terapêuticos não térmicos baseados em luz, associados ou não à radiação ionizante.

Atualmente, estratégias terapêuticas baseadas em luz constituem área ativa de pesquisa por ser não invasiva, apresentar bons resultados e possuir interessante relação custo-benefício. Em particular, para os efeitos não térmicos, utilizam-se fontes de luz (principalmente lasers e LEDs) de emissão vermelha e infravermelha próxima, que são absorvidas por cromóforos endógenos ou exógenos ao organismo, desencadeando uma série de reações fotofísicas/fotoquímicas para observação do efeito fotobiológico/fotomédico desejado.

O objetivo desse projeto é, portanto, desenvolver e fundamentar novos processos terapêuticos ou preventivos da luz de baixa irradiância para aplicação nas diversas áreas da saúde, bem como investigar seus mecanismos de ação em tais sistemas biológicos. Para atingir tal objetivo, essa linha de pesquisa é dividida em duas sublinhas: fotobiomodulação (PBM) e terapia fotodinâmica (PDT). A primeira objetiva

a compreensão dos efeitos da luz em processos inflamatórios e tumores através de modelos pré-clínicos. A associação da PBM com a radioterapia em processo tumoral também é investigada. A segunda tem como propósito entender os mecanismos envolvidos na inativação de microrganismos, incluindo bactérias super-resistentes, fungos e parasitas, usando diferentes fármacos fotossensibilizadores.

As parcerias nessas linhas de investigação são com o ICB/USP; IFUSP; IQ/USP; a Universidade Brasil, São Leopoldo Mandic, UNINOVE; a Universidade de Harvard, EUA; e a Universidade de Córdoba, Argentina.

## 6. Desenvolvimento de tecido artificial assistido por terapia óptica

O tendão é um tecido especializado que conecta os elementos do sistema musculoesquelético. Ele é composto por um tecido conjuntivo rico em colágeno, capaz de suportar altas forças de tração. As células majoritárias no tendão são os tendinócitos, que estão dispostos em linhas longitudinais, cercando as fibras de colágeno. Os tendinócitos têm potencial limitado de proliferação e conferem, assim, uma baixa capacidade regenerativa ao tendão lesionado.

As lesões de tendão e do ligamento são problemas clínicos comuns como resultado de seu uso excessivo, relacionado a atividades ocupacionais, ou do envelhecimento. Por exemplo, prática de atletismo, além de doenças crônicas degenerativas, tais como as tendinopatias, acompanhadas de outras doenças reumáticas advindas do envelhecimento. A reconstituição total do tendão ocorre mediante procedimento cirúrgico. Após cirurgia, na maioria dos casos os tendões não regeneram, há formação de escaras e necrose, que é um fator para desabilidade funcional dos pacientes. As terapias baseadas em células-tronco oferecem um grande potencial para promover a regeneração do tendão, devido a sua alta atividade proliferativa, sintética e imunomoduladora, bem como seu potencial para se diferenciar em células-alvo e sofrer modificações genéticas.

Além disso, terapias baseadas em luz oferecem alternativa menos invasiva ao paciente e têm mostrado bom resultado para o tratamento de distúrbios funcionais de diferentes etiologias. A terapia óptica (ou terapia com luz ou ainda fototerapia) é um método terapêutico muito antigo. A fotobiomodulação usa fontes de luz (principalmente lasers e LEDs) que emitem baixa irradiância, e a energia luminosa é transformada em energia química, desencadeando uma cascata de eventos biológicos em nível molecular, até a resposta clínica macroscópica.

Dessa forma, o objetivo desse estudo é associar o uso de células-tronco mesenquimais (CTM) e luz de baixa potência (LBP) no desenvolvimento de um tendão artificial.

Serão utilizadas CTM para diferenciação em tendinócitos, já que tendinócitos têm baixa taxa de proliferação. Os tendinócitos diferenciados serão crescidos em diferentes *scaffolds* (biológicos e sintéticos), texturizados ou não, para promover maior alinhamento e crescimento celular. A terapia óptica será utilizada nesse trabalho com o objetivo de acelerar e estimular a diferenciação de CTM em tendinócitos, além de melhorar a orientação do tendão, conferindo maior estabilidade mecânica, o que permitiria desenvolver um tecido capaz de ser utilizado em medicina regenerativa para reparo de lesões tendíneas. Serão estudados parâmetros da LBP para acelerar a proliferação e a diferenciação de CTM em tendinócitos. Estão previstos ensaios *in vitro* e *in vivo*.

#### 7. Circuito microfluídico para ensaios imunológicos

O objetivo desse projeto é desenvolver dispositivos microfluídicos para ensaios imunológicos. Ou seja, desenvolver no país uma capacidade de processar materiais com lasers de pulsos ultracurtos e utilizar tal capacidade para aplicações inovadoras em saúde. O processamento com lasers de pulsos ultracurtos é uma tecnologia nova, ainda em fase de estudos fundamentais e desenvolvimento tecnológico, com características muito diferentes de qualquer outro método de processamento por remoção de material. Por se tratar de pulso laser com duração temporal

menor que a interação elétron/fóton, sob certas condições pode-se obter um processo sem efeitos térmicos e uma ferramenta de usinagem com diâmetro menor que 1  $\mu\text{m}$ .

Essa ferramenta é, portanto, capaz de produzir estruturas praticamente impossíveis de se obter com qualquer outro método. Além de estruturas micrométricas processadas diretamente na superfície de qualquer tipo de material, ainda é possível o processamento no interior de materiais transparentes.

Devido às altíssimas intensidades obtidas por pulsos ultracurtos, também é possível alterar as propriedades tribológicas, químicas e físicas de superfícies. Essas propriedades abrem novas possibilidades de processamento, com resultados que estão revolucionando diversos ramos do conhecimento.

No campo da microfluídica, incentivou-se o desenvolvimento de equipamentos e processos de laboratório miniaturizados. Esses processos oferecem menor consumo de reagentes, automação, compactação e melhor custo-benefício. A duração das experimentações pode ser drasticamente reduzida, de horas para imunoensaios típicos realizados em placas de microtitulação, para minutos com microcanais. A introdução de enzimas como marcadores de anticorpos abriu novas possibilidades para testes de antiglobulina em sorologia, originando testes práticos para propósitos rotineiros, como o ensaio imunoenzimático (ELISA).

O teste ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) é um ensaio imunoenzimático que usa anticorpos específicos para detectar antígenos/anticorpos em uma amostra. O complexo que contém o anticorpo é visualizado pelo acoplamento da enzima ao anticorpo. A adição de substrato e cromogênio ao complexo enzima-anticorpo-antígeno resulta em um produto colorido. Típicos tempos de processamento para um teste ELISA são da ordem de horas. Portanto, torna-se altamente desejável um arranjo microfluídico que reduza os tempos de processamento, o consumo de reagentes e ainda forneça uma plataforma ELISA de dimensões bastante reduzidas.

Um dos grandes desafios da ciência hoje é desenvolver aplicações para o diagnóstico de doenças que possam ser acessíveis às populações mais pobres, distantes dos grandes centros. Utilizando pulsos de laser ultracurtos, será desenvolvido e usinado um circuito microfluídico capaz de replicar ensaios imunoenzimáticos (ELISA) com um custo muito menor de materiais. Microcanais gravados em vidro BK7 separados por um filme PDMS formarão a base do sistema. O controle de fluxo do reagente será feito por microválvulas pneumáticas monitoradas por um microcontrolador *Arduino* através de uma plataforma *Labview*. As reações enzimáticas ocorrerão sob condições de fluxo interrompido, em uma parte do circuito construído em forma de serpentina, para facilitar a detecção por um *software* de processamento de imagens. Utilizar-se-ão como prova de conceito antígenos purificados do *Toxoplasma gondii* para a imobilização da fase sólida e anticorpo *anti-IgG* na solução do conjugado enzimático. Ensaios com ELISA padrão serão realizados para validação dos resultados.

#### 8. Tomografia por coerência óptica

Nessa pesquisa e desenvolvimento são considerados os sistemas de tomografia óptica e métodos de análise de sinais de tomografia por coerência óptica, OCT, visando a diagnósticos não invasivos.

A tomografia por coerência óptica, ou OCT (*Optical Coherence Tomography*), foi desenvolvida em 1991, quando foi proposta uma metodologia de tomografia baseada em interferometria de baixa coerência. Essa técnica é capaz de produzir imagens de corte em seção transversal com alta resolução espacial de microestruturas espalhadoras (Figura 16). A capacidade da técnica OCT de realizar imagens explorando a curta coerência temporal das fontes empregadas vai além do alcance dos microscópios ópticos confocais tradicionais. Na pele e em outros tecidos altamente espalhadores, a técnica de OCT permite construir imagens com penetração de 1-2 mm abaixo da superfície. A capacidade de gerar essas informações *in vivo*, de maneira não invasiva e em tempo

real, sem utilizar radiação ionizante, motivou o interesse pela técnica nas áreas biológicas, na qual OCT teve suas primeiras aplicações.

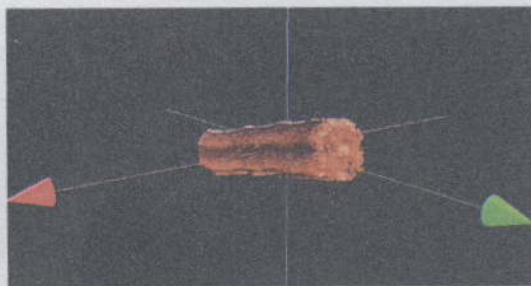
Contudo, estudos biológicos não têm interesse apenas em aspectos morfológicos das imagens de OCT. Nesse sentido o desenvolvimento de metodologias quantitativas é de grande importância no auxílio de um diagnóstico. A determinação da correlação entre a microestrutura do esmalte dental humano e seu grau de mineralização (lesão de cárie) já está bem definida na literatura internacional. O projeto correlaciona esse grau de desmineralização a uma característica óptica presente nas imagens de OCT de esmalte dental, o coeficiente de atenuação óptica, proporcionando um diagnóstico não invasivo, pode ser realizado em tempo real e pode ser empregado como parâmetro de acompanhamento da saúde dental dos pacientes.

Muitos estudos requerem informações adicionais sobre a amostra, aspectos que sirvam de base para diagnóstico, como a caracterização de fluxos e microvascularização. Em paralelo a esse fato, a microfluídica é considerada um *hot topic*, e a utilização de imagens de OCT para detecção e/ou caracterização com mensuração de fluxos com variância de *speckle* é um tema bastante novo na literatura internacional.

Portanto, a técnica de tomografia por coerência óptica gera imagens de corte transversal com resolução espacial da ordem de poucos micrômetros, sem contato e *in vivo*. Essa imagem fornece informações em profundidade de estruturas presentes em amostras espalhadoras. Uma importante característica dessas imagens é a presença do padrão de *speckle*, resultante de processos de interferência da luz. Em muitas aplicações o *speckle* é desprezado ou subtraído das imagens com o objetivo de melhorar seu contraste.

O projeto de pesquisa aqui proposto visa utilizar a informação de *speckle* presente nas imagens de OCT para determinar a velocidade de fluxos de líquidos

**16** Reconstrução tridimensional de um fio de cabelo afro-étnico. Na imagem, identifica-se, ao centro, a medula do cabelo (parte mais clara no meio) e a cutícula (parte externa). Pesquisa em colaboração com a Faculdade de Farmácia da USP. Crédito: Anderson Zanardi de Freitas.



em microcanais, aplicando e adaptando técnicas de análise de *speckle* conhecidas de outros campos de pesquisa.

O principal diferencial da proposta é a construção de imagens de meios espalhadores contendo microcanais, ou canais capilares, e utilizar a autocovariância (temporal) da intensidade de *speckle* como principal parâmetro de análise. Esse fato vai permitir obter, na mesma imagem, informações morfológicas (dimensões e localização dos microcanais) e funcionais (velocidade de fluxo de espalhadores internos aos canais) com alta resolução espacial e temporal. O projeto visa também caracterizar dimensionalmente circuitos microfluídicos, estudar e adaptar os algoritmos de autocorrelação de *speckle* para determinação de velocidades de fluxos em microcircuitos, além de possibilitar a detecção de variação de fluxo sanguíneo em vasos capilares. Há diversas parcerias nesse desenvolvimento, como: UFPE, UFABC, FOU SP, FO-UNICAMP e MIT/EUA.

#### 9. Estudos de bioaerossóis por técnicas de sensoriamento remoto a laser

Os bioaerossóis também são conhecidos como aerossóis biogênicos primários, e são expostos diretamente da biosfera para a atmosfera. Alguns exemplos de bioaerossóis são os pólenes, bactérias, fungos, esporos, vírus, fragmentos de animais e plantas. Os bioaerossóis pertencem à fração grosseira do material particulado do ar, com diâmetros aerodinâmicos de até 100  $\mu\text{m}$ , podendo ser encontrados no intermediário e frações finas, com diâmetro aerodinâmico inferior a 10  $\mu\text{m}$ , 2,5  $\mu\text{m}$  e de 1  $\mu\text{m}$ .

Esporos de fungos, bactérias, vírus e proteínas costumam ser detectados nesse intervalo de tamanho, ou seja, na fração respirável das partículas de ar, sendo extremamente relevante para efeitos de saúde pública e interações com poluentes gasosos. Doenças infecciosas e não infecciosas causadas por bioaerossóis estão sujeitas não apenas em suas

características biológicas e composição química, mas também no número de partículas inaladas e no sítio de depósito no sistema respiratório.

O projeto de pesquisa objetiva executar o monitoramento de bioaerossóis (fungos) provenientes do bioma e que podem sofrer mutações devido a interações químicas e físicas dos poluentes. Visa, ainda, desenvolver e padronizar uma metodologia para monitorar o título dos microrganismos encontrados em plumas opticamente finas que são remotamente aerotransportadas, além de compreender e prever futuras mudanças da composição atmosférica, a fim de projetar políticas de qualidade do ar e estratégias de redução de emissões adaptadas.

A compreensão da microbiota aérea de dado local é determinante para o tratamento de alergias, monitoramento da contaminação do ar e diagnóstico ecológico. Os bioaerossóis possuem uma característica importante no ciclo hidrológico, pois são formadores de núcleo de gelo, podendo ser uma ferramenta de intenso estudo na temática relacionada às mudanças climáticas. Por possuírem propriedades importantes tanto para seus efeitos como para sua detecção, como diferentes mecanismos de transporte, deposição superficial e dispersão de luz, o sensoriamento remoto com laser de bioaerossóis é uma técnica de detecção com alta sensibilidade, seletividade e em tempo real. O laser micropulsado é um sistema de sensoriamento potente, sofisticado, compacto e acessível, que fornece monitoramento contínuo e autônomo dos perfis e propriedades ópticas dos aerossóis na atmosfera. Um sistema LIDER (*Light DEtection and Ranging*) mede a intensidade da luz retroespalhada com precisão, transformando o sinal em informação atmosférica em tempo real.

Ao final do trabalho, espera-se uma metodologia capaz de monitorar emissões atmosféricas de bioaerossóis (fungos), baseada no tratamento de dados de medições com sistema LIDER e fluorescência induzida por laser, consolidando, com isso, uma técnica avançada no monitoramento de emissões atmosféricas, capaz de gerar informações em tempo real. Também poderão ser geradas informações para auxílio no

desenvolvimento de outros estudos, voltados ao abatimento de emissões de componentes de interesse e definição de políticas públicas de saúde.

Essa pesquisa conta com as seguintes parcerias: *Physics Institute Center*, de Moscou, Escola Politécnica da USP, Faculdade de Engenharia de São Paulo, em Diadema, e Instituto de Astronomia, Geofísica e Ciências Atmosféricas (IAG) da USP.

10. Espectrometria de massas de alta velocidade: uma plataforma para a identificação, caracterização e avaliação de funcionalidade de nanopartículas para aplicações médicas

Nos últimos anos, a nanotecnologia trouxe contribuições significativas em várias áreas do conhecimento. Assim, à medida que avançam estudos e aplicações em nanoescala, avanços também são necessários nas áreas de identificação, quantificação, caracterização física, química, morfológica, magnética etc. desses materiais. Nesse cenário, uma nova estratégia analítica capaz de identificar e analisar nanopartículas individualmente, baseada na técnica de espectrometria de massas, traz novos horizontes para a nanociência, especialmente em aplicações médicas.

Na área médica, nanopartículas são manufaturadas com princípios ativos específicos relacionados ao tratamento que se propõe. Atualmente, as técnicas de análise desses materiais (principalmente *in vivo*) ou não apresentam sensibilidade suficiente ou só são capazes de fazer análises totais (*bulk analysis*).

O projeto tem como objetivo dar início ao desenvolvimento de metodologias que permitam a análise de uma única nanopartícula, determinando sua composição química, física e, de forma inédita no país, sua funcionalidade. Para esse propósito, será utilizada uma plataforma analítica baseada na técnica de espectrometria de massas com varredura rápida, hifenizada com equipamentos periféricos e em conjunto com outras técnicas tradicionais de caracterização.

Os parceiros nesse desenvolvimento são o Hospital Albert Einstein, a Faculdade do Vale do Paraíba, a Unesp, a Universidade de Oviedo, na

Espanha, a Universidade de Ferrara, na Itália, e a Universidade Laval, no Canadá.

#### 11. Avaliação da exposição ocupacional a nanopartículas. Estudos exploratórios para gerenciamento de riscos

Nos últimos anos, nanomateriais têm sido utilizados em diversas aplicações comerciais, levando à produção e ao processamento diário de toneladas desses materiais. Como consequência, cada vez mais trabalhadores ficam expostos a esses materiais, com riscos ainda ignorados pela ciência. No Brasil não existem, até o momento, levantamentos sobre os níveis de exposição de trabalhadores dessa nova indústria, assim como não há regulamentação sobre o risco ocupacional em ambientes de trabalho ou qualquer dado dessa natureza que sirva como referência.

Esse projeto tem como objetivo o desenvolvimento de um programa sistemático de monitoramento atmosférico e biológico em locais de trabalho de nanopartículas e, de forma inédita no país, avaliar a exposição individual do trabalhador e potenciais riscos tóxicos ocupacionais. O projeto será realizado em colaboração com o Laboratório de Biofísica do Instituto de Física da Universidade de São Paulo e, de modo a validá-lo dentro da legislação vigente, em cooperação com a FUNDACENTRO.

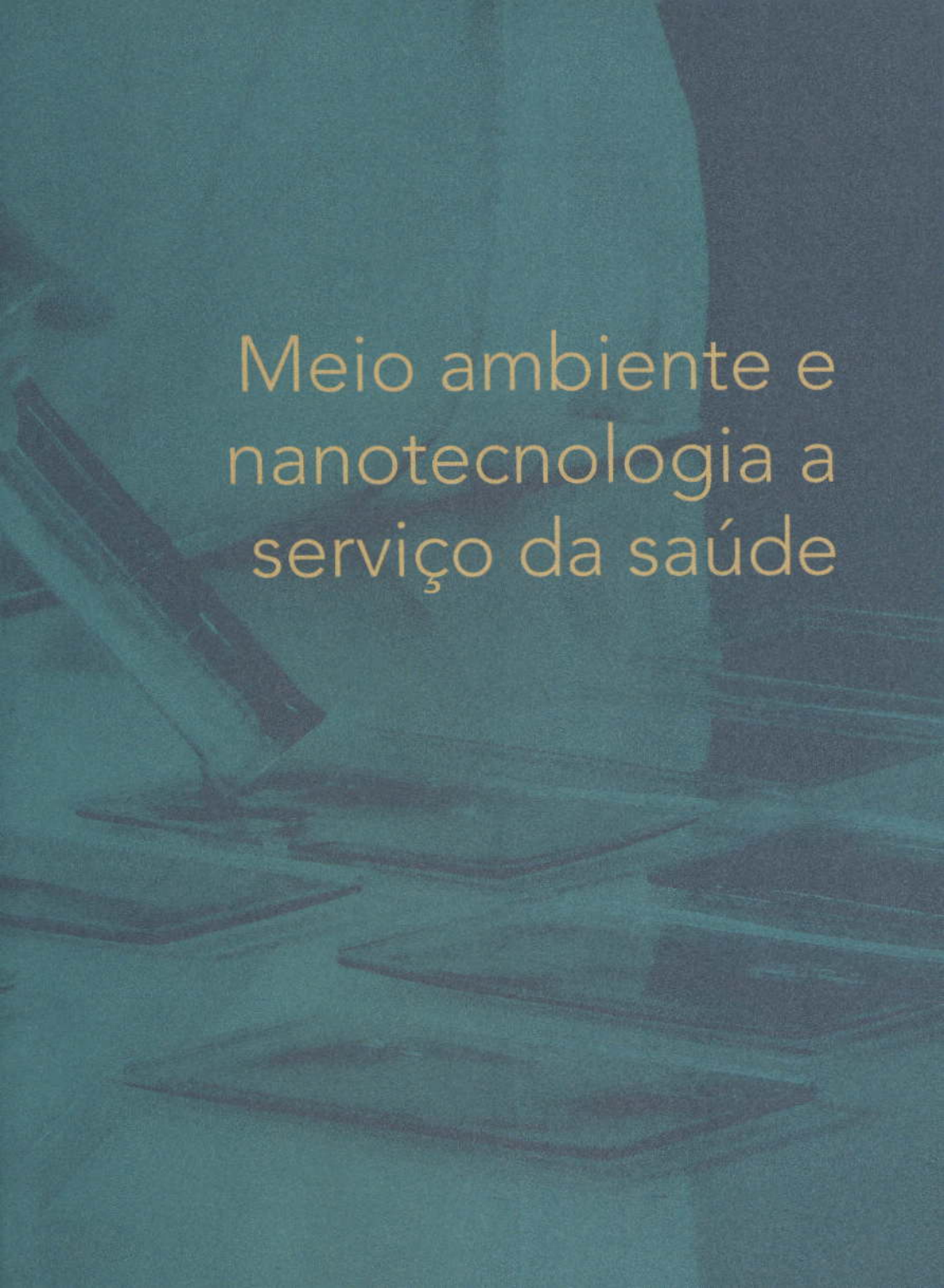
Serão realizados ensaios para identificação de nanopartículas no ambiente laboral com a utilização de marcadores biológicos, para identificação de inalação inadvertida desses materiais. Em uma segunda etapa, utilizando a técnica de espectrometria de massas com fonte de plasma, MEV, FAM, entre outras, será feita a caracterização química, física e morfológica, com o objetivo de identificar a quantidade de princípio ativo transferido ao corpo humano e suas possíveis consequências toxicológicas. Os potenciais beneficiários dos resultados desse projeto são indústrias, laboratórios e centros de pesquisa que trabalhem com nanomateriais, além de hospitais, para estudos toxicológicos e outras doenças relacionadas à exposição desses materiais.

## 12. Lasers de alta intensidade como aceleradores compactos de partículas: possíveis usos em medicina


O projeto visa à introdução de aceleradores a laser de alta intensidade como aceleradores compactos de partículas carregadas. Em uma primeira fase planeja-se acelerar elétrons com o uso do sistema laser já existente de 1/2 TW, melhorando-o para atingir intensidades relativísticas. Segue um aperfeiçoamento das condições de geração, para obtenção de energias cinéticas elevadas e controle da emitância do feixe, além da maximização da carga elétrica ou corrente. Em uma segunda fase, pretende-se acelerar prótons, utilizando o sistema aperfeiçoado ou um sistema já com as características necessárias para testar a produção de radiofármacos para a medicina brasileira.

Pretende-se demonstrar a capacidade de provocar reações nucleares de topo de mesa e gerar radioisótopos de meia-vida curta, bons marcadores para detecção de câncer. A proposta é de um projeto evolutivo, que em uma segunda fase utilizará um sistema laser mais potente, capaz de acelerar prótons e elétrons a maiores energias, de forma a ampliar sua utilização na medicina nuclear, já visando se transformar em um acelerador a laser para protonterapia.

Uma terceira fase permitirá que um sistema muito mais potente (*world class*) seja instalado, capaz de atingir energias de prótons para um amplo uso em protonterapia, além de criar condições extremas para estudos inclusive de fusão nuclear. Pretende-se demonstrar e estabelecer técnicas de aceleração a laser no país, de partículas carregadas com alta energia, constituindo-se em feixes de elétrons, prótons e outros íons, além de geração de raios X e raios gama. Além disso, objetiva-se produzir radioisótopos por aceleração de partículas a laser e produção de reações nucleares de topo de mesa. Pretende-se também estudar as condições para essa tecnologia se tornar parte do sistema produtivo da medicina nuclear. As seguintes parcerias fazem parte do projeto: Universidade de São Paulo, Universidade de Nebraska-Lincoln e do Colorado, ambas nos EUA.



Meio ambiente e  
nanotecnologia a  
serviço da saúde

 IPEN possui, desde sua fundação, competências científica e tecnológica associadas a grupos de pesquisa voltados para PD&I, formação de recursos humanos e prestação de serviços, nas áreas de tecnologia química e nuclear.

Em 1995, foi criada a área de Química Ambiental, sendo em seguida estruturada a área de tecnologias limpas, constituída por laboratórios de reciclagem e reaproveitamento de resíduos, materiais poliméricos e biomateriais e nanotecnologia. Nessa reformulação de atividades foi adotada uma estratégia de projetos de pesquisa com ações integradas e cooperativas, sendo formada uma equipe multidisciplinar. Nos últimos anos, essa equipe multidisciplinar vem trabalhando, de maneira estratégica, para aplicações de diversas tecnologias na área de medicina nuclear e da saúde em geral. Estudos sobre nanomateriais bifuncionais com propriedades magnéticas e luminescentes, nanomateriais luminescentes inorgânicos e nanomateriais luminomagnéticos são alguns exemplos.

Interessante notar a inserção dos desenvolvimentos no campo da nanotecnologia, área bastante promissora e revolucionária nas pesquisas médicas recentes. Nesse campo, destacam-se os sensores de nanomateriais multifuncionais, cuja combinação pode ser utilizada para obtenção de imagens *in vivo* e *in vitro*, tais como imagem por ressonância magnética, MRI (*Magnetic Resonance Imaging*), que aliam as características individuais de cada sensor.

A área de química ambiental, apesar de focar o entendimento das implicações da contaminação por poluentes antropogênicos dos vários compartimentos ambientais (águas, solo e atmosfera), contribui para a

proteção à saúde por meio do estabelecimento de limites máximos de exposição a cada poluente em foco. Os laboratórios de síntese, processamento e caracterização de polímeros e biomateriais contribuem para o estudo e o desenvolvimento de hidrogéis poliméricos em suas várias aplicações na saúde. Já os laboratórios de nanotecnologias desenvolvem a síntese de nanopartículas proteicas, bem como nanopartículas metálicas e híbridas.

As linhas de pesquisa mais relevantes abrangendo nanotecnologia e meio ambiente com aplicações no campo da saúde atualmente em desenvolvimento no IPEN são vinte e estão descritas a seguir.

1. Modificação de superfícies poliméricas de cateteres por meio de radiação para promover atividade bactericida

No contexto da infecção hospitalar, toda iniciativa de proteção do organismo humano dos ataques de micro-organismos deve ser promovida, principalmente nos casos de ferimentos e recuperação pós-cirúrgica. Os procedimentos médicos com o uso de cateteres e/ou próteses devem assegurar condições de cicatrização e recuperação livres de contaminações e de ataques de micro-organismos. Nesse sentido, a pesquisa e o desenvolvimento de superfícies ativas contra o crescimento de contaminações e ainda a formação de biofilmes devem ser vistos como uma inovação promissora na área da saúde.

A procura de cateteres que possuam propriedade bactericida tem-se intensificado devido aos problemas de infecção que ocorrem nos centros de terapia intensiva. O conceito em estudo refere-se à obtenção de superfícies resistentes ao ataque microbiano e ativas contra bactérias instaladas no organismo antes ou após o procedimento cirúrgico. Essas superfícies ativas serão precisamente as superfícies de cateteres urinários largamente empregados após o intervalo de tempo de pós-cirurgia e alta do paciente, de 8 a 10 dias. Nesse intervalo o paciente em convalescência apresenta-se fragilizado pela baixa resistência a infecções.

Uma das formas de conduzir a modificação das superfícies seria via enxertia, induzida por processo de radiação. A irradiação é comumente realizada em fonte de  $^{60}\text{Co}$ , operando em torno de  $5,72 \text{ kGy} \cdot \text{h}^{-1}$ . O nível percentual de ramificação da superfície é ajustado por variação de parâmetros de temperatura, tempo de reação, concentração de monômeros, dose e taxa de dose, entre outros. Realizadas as modificações por radiação, são na sequência adicionados monômeros ou nanopartículas, ou fármacos. Essas possibilidades levam a materiais de superfície ativa e antimicrobiana.

A metodologia de caracterização dos materiais obtidos pelo processo descrito inclui: termogravimetria (TG); avaliação da estabilidade das superfícies; espectroscopia no infravermelho e Raman, para identificação espectroscópica das modificações estruturais; difração de raios X, para identificação de nanopartículas metálicas; microscopia de força atômica (AFM); espectrometria no UV-visível, para determinar a concentração do fármaco liberado, e testes microbiológicos, para avaliação da atividade bactericida.

Os dois objetivos principais desse trabalho são: (a) a utilização de fontes de  $^{60}\text{Co}$ , alta taxa de dose, para a irradiação de tecidos biológicos, visando caracterizá-los opticamente; e, ainda, (b) o desenvolvimento de novos métodos de diagnóstico e terapia. Pretende-se reproduzir a superfície ativa em *3D-printer* na forma de cateter urinário.

O projeto baseia-se na síntese de um tubo de cateter com superfície modificada por radiação. É constituído de polímero plástico com superfície ativa antimicrobiana promovida para uso pós-cirúrgico na forma e composição de cateter urinário. Atualmente não há um cateter comercial que apresente liberação de fármaco ou atividade contra a formação de biofilmes de bactérias hospitalares. É importante salientar que essa pesquisa proporciona um considerável espectro de aplicações pela possibilidade de monitorar a liberação de fármacos. Há parcerias com o Hospital Israelita Albert Einstein, que disponibiliza testes *in vivo* em animais, e com o Instituto de Ciências Biomédicas da USP.

## 2. Estudo de associações de antibiótico e nanopartícula de prata na atividade bactericida de hidrogel

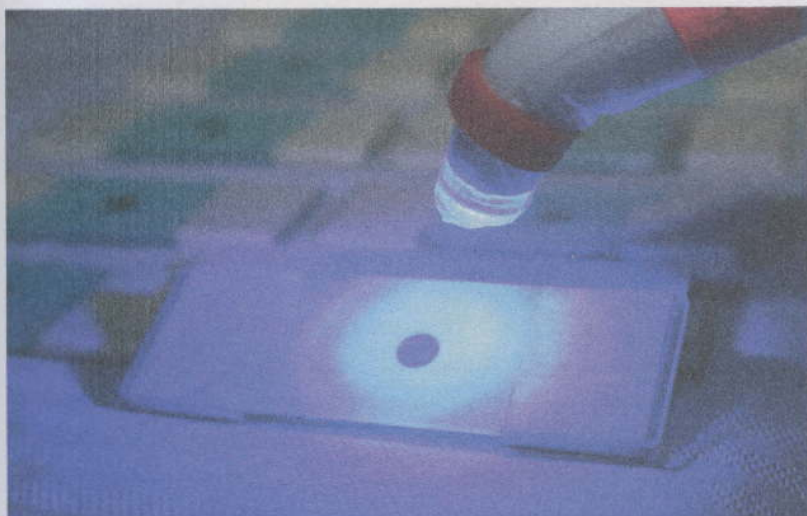
O emprego de antibióticos em hidrogéis pode acarretar sinergismo, quando ocorre juntamente a outros fármacos ou substâncias ativas bactericidas. Na literatura há poucos estudos relativos a hidrogéis que associem esse efeito a fármacos em conjunto com nanopartículas. Essa linha de pesquisa propõe, como inovação, estudar as associações entre hidrogel/nanopartícula de prata/antibiótico e desenvolver um curativo para a liberação tópica dos fármacos.

A incorporação da nanopartícula de Ag (NP-Ag) no hidrogel pode combater a formação de biofilmes, acelerar o processo de cicatrização e aumentar o espectro de ação do curativo contra bactérias resistentes. Sendo o combate a infecções por bactérias um problema de saúde pública enfrentado em todo o mundo, a investigação de sinergismo é de interesse atual.

O objetivo principal da pesquisa é a produção de argilogel, baseado em um sistema polímero-argila, em formato de membranas de hidrogel, com funcionalidade de sistema de liberação controlada de fármacos (Figura 17). O projeto baseia-se na síntese de hidrogel em um sistema polímero/fármaco/NP-Ag em forma de membranas de hidrogel, processadas através da radiação gama de fonte de  $^{60}\text{CO}$ . O hidrogel pode ser empregado como um sistema de liberação controlado de drogas e a atividade bactericida intensificada pela presença das nanopartículas de prata, ou seja, com efeito de sinergismo.

As propriedades do novo material serão investigadas por meio das análises de intumescimento, fração reticulada denominada em questão como fração gel, estabilidade térmica do sistema completo (TG), determinação da liberação *in vitro*, empregando a técnica de HPLC-MS/MS, estudos reológicos e testes de atividade microbiológica.

O emprego de um material que aumente a capacidade bactericida do hidrogel é interessante para a absorção de exsudados de ferida, diminuindo odores e o risco de reinfecção do local. O uso de antibióticos já



17 Processo de polimerização das resinas compostas experimentais por meio de aparelho LED, antes da metodologia de liberação de fármaco. Crédito: E. R. Paiva.

existentes no mercado diminui o custo do desenvolvimento de novos fármacos e possibilita a potencialização do efeito do medicamento sobre a lesão. Esse fato pode diminuir a incidência do surgimento de bactérias super-resistentes. Há parceria com o Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

### 3. Nanomarcadores luminescentes com emissão no visível para biomarcação

O objetivo dessa pesquisa é desenvolver marcadores ópticos para aplicação em marcação biológica e medicina. Como metas, o projeto pretende desenvolver marcadores para identificação de materiais biológicos como: proteínas, anticorpos de doenças como câncer e outras que estão classificadas no portfólio do governo federal como doenças negligenciadas (leishmaniose, Chagas, dengue etc.).

Um dos principais desafios da biologia e da medicina é entender a estrutura e as propriedades funcionais de células, órgãos e organismos

vivos. Com foco na medicina, as técnicas de imagem são cruciais para dois aspectos do tratamento da doença: diagnóstico e avaliação da eficiência do tratamento. O desenvolvimento de técnicas de diagnóstico por imagem obteve um tremendo impacto no progresso da medicina durante os últimos trinta anos, particularmente no caso da detecção e tratamento do câncer. No entanto, melhorias ainda são necessárias no que diz respeito à sensibilidade, resolução espacial, profundidade de penetração e especificidade.

Hoje em dia, há muito interesse em duas áreas, que emergiram rapidamente. A primeira é o teranóstico, que combina a entrega de um medicamento terapêutico com um agente de diagnóstico na mesma dose administrada ao paciente. Desse modo, o tecido doente, a cinética de entrega e a eficácia do tratamento são monitorizados ao mesmo tempo com a mesma biodistribuição. O segundo aspecto trata de imagens moleculares que visam obter *in vivo* informações específicas do alvo com alta sensibilidade. Para atingir esse objetivo, é necessário projetar sondas que misturam diferentes modalidades e o processamento de sinais.

A imagem óptica, especialmente a imagem por luminescência, surge então como um componente vital das várias técnicas necessárias para atender aos rigorosos requisitos da medicina moderna e da biologia. De fato, dependendo de seu comprimento de onda, a luz pode penetrar profundamente dentro dos tecidos biológicos, e sua detecção é bastante sensível, já que é possível a detecção de um único fóton. Outra vantagem é que os fótons interagem com os elétrons no nível molecular, e técnicas como a transferência de energia ressonante de Förster (FRET) levam à detecção de interações moleculares, por exemplo, a hibridação de DNA. Dependendo da vida útil do estado excitado, que gera emissão de luz, informações sobre o domínio do tempo podem ser obtidas graças à detecção temporizada. Por fim, como os rendimentos quânticos dependem da temperatura, o registro das variações da intensidade de luminescência dentro das células ou dos tecidos leva à geração de imagens térmicas. Existem vários tipos de sondas luminescentes ópticas.

Os íons de terras raras trivalentes,  $TR^{3+}$ , representam uma excelente opção de luminóforos, devido a suas excepcionais propriedades ópticas, permitindo fácil discriminação espectral e temporal de suas bandas de emissão, que se estendem do UV até os limites espectrais do NIR, dependendo do íon. Outra vantagem notável e decisiva para usar esses complexos de lantanídeos é sua baixa exposição ao fotobranqueamento, pois sua luminescência é sensibilizada pelos ligantes orgânicos, e a transferência de energia do cromóforo para o íon é rápida o suficiente para evitar a fotodegradação do ligante.

Assim, os nanomateriais baseados em terras-raras são compostos muito promissores no campo de diagnóstico, imagem e terapia. Esse fato é atribuído às propriedades ópticas singulares desses elementos. As características favoráveis dos íons terras-raras dopados em nanomateriais incluem um eficiente deslocamento entre o máximo da banda de absorção e o máximo da banda de emissão, picos de emissão finos com largura de bandas estreitas, baixa possibilidade de apagar a luminescência, alta estabilidade química para degradação fotoquímica, baixa toxicidade e ausência de descontinuidade. As aplicações biomédicas das terras-raras vão desde os marcadores luminescentes para moléculas relevantes e detecções de funções celulares *in vivo* até a elucidação de estruturas e de funções de enzimas e proteínas.

Além disso, nanopartículas dopadas com terras-raras são candidatas mais eficazes ao bioimageamento. A obtenção de imagens com alta resolução, usando técnicas de luminescência, tem sido largamente usada nas ciências biomédicas, para aplicação em análise morfológica de bioestruturas anatômicas até medidas sensitivas de eventos moleculares intracelulares, e está associada às várias vantagens como: seletividade, sensibilidade, natureza não destrutiva quando comparada com outros métodos de imagem convencionais.

Dentre os íons de terras-raras, o  $Eu^{3+}$  e o  $Tb^{3+}$  têm recebido maior atenção devido a vários fatores desejáveis para aplicação biológica, como emissão no visível, tempo de vida luminescente longo, da ordem de milissegundos, e menor sensibilidade para perder a luminescência na

presença de oxigênio singlete. Além disso, as emissões das transições referentes aos íons  $\text{Eu}^{3+}$  e  $\text{Tb}^{3+}$  são vermelha e verde, respectivamente, com alto grau de pureza.

Dentro desse contexto o projeto visa à obtenção de marcadores luminescentes para aplicação na área biológica e médica com emissão na região do visível. Várias parcerias estão envolvidas nesse projeto, a saber: IQ-USP, ICB-USP, IQ-UFPB, IQ-UFPE, LNLS, Centro de Pesquisas Aggeu de Magalhães (CPqAM-Fiocruz), em Recife.

4. Desenvolvimento de hidroxiapatita a partir de resíduos da agroindústria de ovos para aplicação na regeneração de tecidos ósseos e dentários

O objetivo desse trabalho de pesquisa é a obtenção de hidroxiapatita a partir de cascas de ovos de aves, resíduos da agroindústria de ovos, para aplicação na regeneração de tecidos ósseos, tecidos dentários e também na fabricação de cremes dentais.

A hidroxiapatita (HAp) é um material cerâmico formado, basicamente, por fosfato de cálcio com biocompatibilidade e similaridade química com os tecidos ósseos e dentários dos seres vivos. A biocompatibilidade da HAp permite realizar ligações de natureza química com o tecido ósseo, possibilitando o crescimento do osso ao redor de um implante em um curto período de tempo. Depois de implantada e de fornecer sustentação para o crescimento ósseo, a HAp passa a ser absorvida pelo organismo, o que resulta no tecido regenerado. Sua biocompatibilidade somada à estabilidade em meio alcalino ou neutro faz da HAp um material apropriado para uso como prótese e cimento para reconstrução de pequenas partes do dente e na regeneração do tecido ósseo.

Devido a sua morfologia porosa, pode também gerar um biomaterial para uso como suporte para deposição de fármacos. A HAp pode ser obtida por diferentes técnicas a partir de precursores de cálcio e fósforo. Nesse projeto, a hidroxiapatita é obtida a partir do carbonato de cálcio de cascas de ovos, resíduos da agroindústria de ovos. Na produção da HAp

(bio-HAp), o carbonato de cálcio (obtido de cascas de ovos) é aquecido a 800 °C para a obtenção de óxido de cálcio. Ao óxido de cálcio é adicionada uma solução de ácido fosfórico sob agitação magnética à temperatura de 100 °C. O produto da reação é seco em estufa, desagregado e sinterizado a 900 °C, para a obtenção de bio-hidroxiapatita.

Cascas de ovos provenientes da agroindústria de ovos do Brasil são usadas nesse projeto como fonte de carbonato de cálcio para a produção de bio-HAp, por constituírem um resíduo industrial volumoso e potencialmente poluente, porém rico em carbonato de cálcio (cerca de 94%). Em 2010 a produção de ovos de galinha no Brasil foi de cerca de 600 milhões de dúzias por trimestre. As cascas desses ovos (10% do peso do ovo), embora sejam utilizadas em vários segmentos da indústria, como cosméticos, suplementos alimentares, fertilizantes, ainda representam um grande volume a ser descartado. O reaproveitamento desses resíduos para a produção de bio-HAp para aplicações biomédicas evita descartes criminosos e a proliferação de doenças causadas por bactérias e fungos, ao mesmo tempo que produz uma bio-HAp com excelentes propriedades, para aplicações na regeneração de tecidos ósseos, dentários, fabricação de biomateriais para uso como suporte para deposição de fármacos e como aditivos para a fabricação de cremes dentais.

#### 5. Determinação da citotoxicidade de materiais em cultura de células padronizados pela Norma ISO 10.993-5

Com o aumento do desenvolvimento de materiais para uso e controle de animais em laboratório para estudos de toxicidade, houve a necessidade de pesquisar um método *in vitro* visando minimizar o uso de animais. Para tanto, foi estabelecida a Norma ISO 10.993-5 - *Biological evaluation of medical devices - part 5: Tests for in vitro cytotoxicity*.

O teste de citotoxicidade pelo método de incorporação do vermelho neutro (NRU) é um ensaio *in vitro* eficaz, de baixo custo, reproduzível, rápido e quantitativo para selecionar substâncias potencialmente

tóxicas. Está baseado no fato de que o vermelho neutro é um corante solúvel em água que atravessa a membrana plasmática celular e se concentra nos lisossomos de células vivas. Muitas substâncias danificam as membranas celulares, resultando no decréscimo de captura e ligação do vermelho neutro. Portanto, assim é possível distinguir entre células vivas e mortas pela medida da intensidade de cor no final do ensaio. O procedimento do ensaio *in vitro* de citotoxicidade segue as normas da *International Standard Organization* (ISO 10.993-5) e a metodologia descrita na literatura. O teste pode ser aplicado para verificar a toxicidade de materiais tanto poliméricos, cerâmicos ou metálicos, com intenção de uso como biomateriais, quanto para substâncias hidrossolúveis, com propósito de utilização na área de saúde: médica, farmacêutica, odontológica, ecotoxicológica etc.

O objetivo principal desse projeto é, portanto, a avaliação de citotoxicidade de biomateriais poliméricos, cerâmicos e metálicos além de outros compostos utilizados na área médica em ensaios *in vitro*, minimizando o uso de animais de laboratório para o estudo de toxicidade de materiais e compostos em geral. Há uma parceria com o Instituto Adolfo Lutz para a execução desse projeto de pesquisa.

6. Uso da radiação para o desenvolvimento de curativos avançados de baixo custo contendo nanopartículas de prata

O objetivo principal desse projeto é a obtenção de curativos de baixo custo à base de hidrogéis, com nanopartículas de prata altamente estáveis e com alto poder de absorção, reticulados e esterilizados, simultaneamente, por radiação ionizante proveniente de uma fonte de  $^{60}\text{Co}$ , para uso em feridas e queimaduras altamente exsudativas e infectadas (Figura 18).

As feridas representam um sério problema de saúde pública no Brasil, uma vez que atingem a população em geral e contribuem para elevar os gastos públicos com a saúde. Alguns fatores, como a extensão da lesão, a presença de isquemia, a associação com doenças sistêmicas



**18** Uma das fases para produção de curativos avançados à base de hidrogel. Crédito: E. R. Paiva.

como diabetes, vasculopatias e vasculites, além da presença de infecções, colaboram para o surgimento e a prevalência de feridas complexas. As infecções em feridas retardam a cicatrização, e quando se trata de bactérias resistentes à maioria dos agentes microbianos a preocupação é ainda maior. Por isso a prata tem sido frequentemente incorporada como agente antimicrobiano ao tratamento de feridas infectadas, atualmente na forma de nanopartículas.

Além disso, todos os anos milhões de pessoas morrem de queimaduras graves, e a maioria dessas mortes é devida à perda da integridade da pele e à invasão microbiana, tendo em vista que as complicações infecciosas continuam sendo um desafio e uma das principais causas de óbito de queimados.

A prata é um potente antimicrobiano por interferir na cadeia respiratória do metabolismo bacteriano, rompendo a parede celular e ligando-se ao seu DNA, inibindo a replicação e o desenvolvimento de resistência, além de minimizar a resposta inflamatória local, ambos facilitando a cicatrização das feridas.

Atualmente, além dos produtos nacionais, existem mais de 2 mil tipos de curativos disponíveis no mercado internacional, destinados às feridas e queimaduras, o que se deve, em parte, à existência de uma grande variedade de tipos de feridas, assim como diferentes fases de cicatrização. Apesar dos inúmeros curativos avançados disponíveis no país, muitos deles são importados e apresentam preço elevado, totalmente fora do alcance da classe média brasileira e dos pacientes dependentes do SUS, sobretudo os curativos antimicrobianos com nanopartículas de prata (NP-Ag).

Deve-se levar em consideração ainda que não há tecnologia nacional competitiva, uma vez que o mecanismo de ação e efetividade das NP-Ag está intimamente relacionado a diversas variáveis, como disponibilidade destas no curativo, concentração, variações na taxa e forma de liberação, diferenças no tamanho, forma e área superficial, espécies químicas associadas, além da necessária estabilidade das nanopartículas. Qualquer alteração na formulação e no processo pode comprometer as propriedades das NP-Ag.

Os hidrogéis atendem a todos os requisitos que favorecem a epiteliização de lesões. Ainda podem liberar substâncias ativas para estimular o processo de cicatrização e evitar ou combater infecções, tendo em vista que a infecção é o grande inimigo da cura de uma ferida, pois determina maior destruição de tecidos e prolonga a fase inflamatória, retardando a reparação tecidual. O desenvolvimento de curativos com nanopartículas de prata (NP-Ag) depende de fatores associados à presença de íons  $\text{Ag}^+$  e/ou metálica  $\text{Ag}^0$ , em filme nanocristalino ou nanoparticulado, além de depender da faixa de concentração usada, formato das partículas e espécies químicas associadas (contraíons, complexos, ligantes).

A incorporação de alginato ao curativo torna-o capaz de absorver grandes quantidades de exsudato, embora possa interferir na atividade da NP-Ag. A utilização da radiação ionizante para reticulação e esterilização simultânea do curativo torna o processo simples, elegante e de baixo custo. O curativo poderá ser aplicado em feridas e queimaduras altamente exsudativas, proporcionando conforto, praticidade e aceleração

da cicatrização, além de permitir o fácil acesso a eles, por todas as classes sociais, devido ao custo reduzido. O objetivo desse trabalho é a obtenção de curativos de hidrogel de PVP/CMC/alginato com NP-Ag estáveis e altamente eficazes no combate à infecção e inflamação. Existe uma parceria com o Instituto de Química da USP nesse desenvolvimento.

#### 7. Uso de nanotecnologia e radiosensibilizadores metálicos em terapia de tumores com radiação gama e com prótons acelerados

Objetiva-se, nesse projeto de pesquisa, o desenvolvimento de nanopartículas de Au,  $^{198}\text{Au}$ , Pd e  $^{103}\text{Pd}$  como radiosensibilizadores para a ablação de tumores superficiais e profundos, tanto *in vitro* quanto *in vivo*.

A utilização de nanopartículas para intensificar os efeitos da radiação tem ganhado crescente atenção, pelo fato de que os efeitos colaterais dessa modalidade terapêutica, causados pela radiação em curto e longo prazo, são consideravelmente diminuídos. Nanopartículas radioativas usadas para terapia antitumoral são outro exemplo de intervenção terapêutica promissora na ablação de tumores, oferecendo controle da dose de radiação mais eficaz, de acordo com a concentração de nanopartículas administradas, e também menor invasividade na administração, dentre outras vantagens.

Além disso, a radioterapia com feixe de partículas carregadas também tem mostrado resultados muito melhores do que a radioterapia convencional, e pode ser potencializada ainda mais se combinada ao uso de nanomateriais com elementos de alto número atômico.

A pesquisa visa à síntese de nanopartículas de ouro e de paládio (radioativas ou não), via redução química por compostos naturais, como epigallocatequina-3-galato, mangiferina e resveratrol, ou por via radiolítica, bem como sua caracterização e utilização em modelos de tumores superficiais e profundos *in vitro* e *in vivo*.

As nanopartículas serão caracterizadas quanto à morfologia por imagem (microscopia eletrônica de transmissão, microscopia de força

atômica), quanto ao tamanho hidrodinâmico, ao potencial zeta e à localização intracelular por microscopia confocal. Células de diversas linhagens tumorais serão cultivadas em placas de 96 poços para os testes *in vitro* e administradas a camundongos BALB/c *nude atímicos* ou C57BL/6 para indução de tumores *in vivo*. Vários marcadores metabólicos, imunogênicos, apoptóticos e angiogênicos serão quantificados *in vitro* e *in vivo*. Por fim, a dosimetria (puramente relacionada aos danos no DNA), em todas as vertentes terapêuticas estudadas nesse projeto, será realizada utilizando simulações de Monte Carlo, adaptadas a cada protocolo, com *softwares* como Geant4 e *DNA fabric tool kit*.

Espera-se que haja diminuição da viabilidade celular em todos os modelos tumorais *in vitro* após a administração de nanopartículas às células em cultura, comparadas a fibroblastos saudáveis. Além disso, espera-se um aumento de sobrevivência dos animais tratados, em consequência da diminuição do volume tumoral, após as terapias com nanopartículas radioativas e também com a ação potencializada da radiação pelas nanopartículas não radioativas de ouro e paládio presentes nos tumores. Por fim, espera-se obter informações relevantes acerca dos mecanismos de dano direto e indireto e da dosimetria da radiação gama ou de prótons em presença ou não de nanopartículas metálicas, bem como em presença de nanopartículas radioativas sem irradiação externa.

Finalizando, salienta-se que a nanotecnologia é um ramo da ciência que tem contribuído de modo significativo nessa área, tanto quanto para os protocolos de radioterapia com partículas carregadas, como prótons e íons. Nanocompósitos e nanopartículas contendo isótopos radioativos são exemplos promissores de agentes teranósticos, ou seja, capazes de ser utilizados para diagnóstico e tratamento.

8. Sistemas nanoestruturados à base de proteínas induzidos por radiação como carreadores de quimioterápicos e radiofármacos

Os desafios relacionados ao desenvolvimento de terapias para o tratamento e diagnóstico de câncer requerem um contínuo esforço para o

desenvolvimento de sistemas capazes de superar os obstáculos impostos pelo desenvolvimento da doença. Nessa pesquisa, objetiva-se, sobretudo, o desenvolvimento, de forma farmacêutica e nanoparticulada, de (a) um sistema quimioterápico e (b) de um sistema radioterápico, à base de nanopartículas de proteínas albumina, para administração parenteral, e de papaína, para uso tópico, como sistema alternativo para o tratamento, diagnóstico e terapêutica de câncer, obtido por meio da reticulação induzida por radiação ionizante.

A tecnologia desse desenvolvimento no IPEN é 100% nacional e está patenteada. Como resultado, a pesquisa permitiu o design de nanocarreadores de baixo custo e o estabelecimento de uma plataforma para sua produção. Os aspectos nanotoxicológicos foram estudados, sendo que as nanopartículas são atóxicas para uso humano, conforme demonstrado por meio de técnicas *in vitro*. A prova de conceito vem sendo realizada utilizando o Paclitaxel e o Tecnécio como modelos de quimioterápicos e radiofármacos. Os estudos demonstram alta capacidade de ligação e a possibilidade de emprego como nanocarreador. Etapas futuras envolvem o *scaling up* da técnica de produção e radiomarcção, além dos estudos de biodistribuição, permitindo a consolidação da prova de conceito. Várias parcerias compõem esse projeto, como: a FMUSP, o INRAD, o ICESP, a Universidade Federal de Uberlândia e a Universidade do Missouri, EUA.

9. Desenvolvimento de um substituto dérmico estruturado à base de gelatina/alginato/poli(caprolactona) funcionalizado com albumina

O projeto objetiva desenvolver um substituto dérmico à base de polímeros biocompatíveis naturais e sintéticos, com porosidade e tamanho de poros controlados, e propriedades mecânicas adequadas à aplicação pretendida.

A engenharia de tecidos busca desenvolver dispositivos que mimetizem o ambiente fisiológico, a fim de criar tecidos vivos e promover regeneração tecidual. No desenvolvimento de substitutos dérmicos, os

arcabouços (*scaffolds*), estruturas tridimensionais porosas, servem como barreira bacteriana, interface entre o local lesionado e o meio externo, além de permitir hospedagem celular. Os substitutos disponíveis no mercado apresentam algumas limitações no que se refere à adequada acomodação ao local lesionado, rápida degradação e perda de propriedades mecânicas, resultando em contraturas no curativo, prejudicando e inviabilizando a reepitelização.

Com base no problema apresentado, o presente trabalho propõe o desenvolvimento de substituto dérmico constituído pela combinação de polímeros naturais, como a gelatina e o alginato com o polímero sintético biorreabsorvível poli( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL). A junção desses materiais visa beneficiar o arcabouço pela elevada biocompatibilidade dos polímeros naturais, assim como compensar sua rápida degradação com a lenta biorreabsorção do polímero PCL, que contribuirá para a estrutura do curativo. O sistema proposto será então funcionalizado com albumina, a proteína mais abundante no plasma humano, a fim de promover um ambiente mais favorável à adesão e proliferação celular. Para a fabricação dos arcabouços, alguns métodos serão utilizados, tais como liofilização, eletrofiação e inversão de fase, a fim de realizar um estudo de tamanho de poro e porosidade minucioso para garantir o sucesso do dispositivo em meio biológico. As amostras serão irradiadas com o fim de esterilização e caracterizadas quanto a sua estrutura e morfologia, distribuição de tamanho de poro e caracterização biológica, quanto à citotoxicidade e à adesão celular.

#### 10. Desenvolvimento de nanopartículas de Au, $^{198}\text{Au}$ e $^{199}\text{Au}$ para diagnóstico e tratamento de câncer

Objetiva-se, nessa pesquisa, o desenvolvimento de nanopartículas de Au radioativas e não radioativas, recobertas por proteínas ou por polímeros biocompatíveis, a serem utilizadas no tratamento de câncer.

O câncer está atualmente entre as três mais frequentes causas de morte por enfermidade no mundo. A aplicação médica da nanotecnologia

é uma ferramenta valiosa no desenvolvimento de novas formas de tratamento e diagnóstico de câncer. O uso das nanopartículas de ouro (NP-Au) representa uma alternativa para solucionar esses problemas, uma vez que é possível funcionalizar sua superfície, utilizando moléculas com alta afinidade a sítios de ligação específica.

Uma rota de síntese de NP-Au utiliza a epigalocatequina-3-galato (EGCG) como agente redutor e estabilizante. Esse método pode ser usado na produção de NP-Au não radioativas, formadas a partir da redução de  $\text{NaAuCl}_4$ , ou radioativas, produzidas por meio do ouro metálico previamente irradiado em fluxo de nêutrons de modo a obter os isótopos de interesse ( $^{198}\text{Au}/^{199}\text{Au}$ ). Nessa pesquisa, objetiva-se sintetizar e caracterizar nanopartículas de Au, radioativas e não radioativas, através de nanotecnologia verde (utilizando fitoquímicos ou por via radiolítica), de modo a obter nanomateriais biocompatíveis, monodispersos e não agressivos ao meio ambiente. Para aumentar o tempo de circulação sanguínea, as nanopartículas serão recobertas com proteínas (albumina de soro humano ou papaína) para diminuir o *uptake* hepático. Esses nanomateriais serão testados *in vitro* e *in vivo* na eliminação de tumores por meio da radiação emitida pelas próprias nanopartículas de ouro radioativas. A atividade antitumoral será comparada com as nanopartículas não radioativas. Participa desse desenvolvimento, como parceira, o Centro de Medicina Nuclear da Universidade do Missouri, EUA.

#### 11. Desenvolvimento de géis biodegradáveis e mucoadesivos para a liberação controlada de drogas para tratamento de câncer de bexiga

O principal objetivo desse projeto é estudar estratégias para um aumento da adesão e permeação de quimioterápicos no urotélio para tratamentos de câncer de bexiga superficial, por meio do desenvolvimento de géis carreadores mucoadesivos com incorporação de nanopartículas de ouro.

O tratamento do câncer de bexiga não músculo invasivo ou superficial é realizado com a raspagem do tumor seguida por instilações

intravesicais de imuno ou quimioterápicos. O método intravesical diminui a toxicidade do tratamento e aumenta a concentração do medicamento na bexiga, de forma a destruir células cancerígenas residuais. Entre as principais dificuldades encontradas na instilação de medicamentos na bexiga humana estão a permeação do ativo no urotélio e o tempo de residência desse fármaco, que é limitado devido à presença da urina, que acaba diluindo e, eventualmente, lavando-o por completo. Nesse projeto, busca-se o desenvolvimento de uma nova formulação para terapia intravesical para câncer de bexiga superficial, a partir da elaboração de um sistema composto por hidrogel e nanopartículas de ouro com alta aderência ao urotélio, que libere de forma controlada o quimioterápico.

Para alcançar esse resultado, serão desenvolvidos géis a partir de polímeros biocompatíveis e estudada a influência da incorporação das nanopartículas de ouro nos hidrogéis na adesão e permeabilidade da formulação ao urotélio. Também será investigado o comportamento reológico dos hidrogéis, o comportamento dos hidrogéis mediante alterações de temperatura e a capacidade de veiculação e liberação do quimioterápico e consequente absorção pelo urotélio. Estão previstos estudos biológicos, de acordo com a Norma ISO 10.993-1 (*International Organization for Standardization, "Biological evaluation of medical devices - Part 1: Evaluation and testing within a risk management process"*).

Espera-se chegar a uma formulação capaz de aumentar o tempo de residência do medicamento na bexiga, controlar sua liberação com uma taxa adequada e diminuir sua toxicidade por meio do direcionamento da terapia ao tumor. Os parceiros nessa pesquisa são a FMUSP, o INRAD do Hospital das Clínicas de São Paulo e o ICESP.

## 12. Desenvolvimento de nanogéis de PVP para liberação controlada de fármacos por barreira hematoencefálica

Esse projeto tem por objetivo geral desenvolver e caracterizar nanogéis por diferentes metodologias, visando conjugá-los com macromoléculas biológicas para aplicação farmacêutica.

Nanogéis são definidos como um sistema de dois componentes, consistindo em uma rede tridimensional permanente de cadeias poliméricas ligadas e moléculas de solvente preenchendo os poros dessa rede. Trata-se de material promissor e inovador no campo das aplicações biomédicas, com dimensões da ordem de nanômetros. Apresentam grande potencial de uso em quimioterapia, diagnóstico de doenças, liberação de substâncias bioativas e vacinas, sistemas de cultura celular, biocatálise, na geração de *scaffolds* bioativos em medicina regenerativa, além de poderem atuar como sensores, nanorreatores e dispositivos mecânicos biomiméticos, por exemplo, músculos artificiais.

Diferentes rotas sintéticas têm sido utilizadas no desenvolvimento de nanogéis com estruturas químicas, arquitetura e propriedades variadas. O emprego da radiação ionizante agrega a vantagem de produzir esse material sem aditivos como iniciadores ou reticuladores, tornando-os atóxicos, além de promover sua esterilização no momento da síntese.

A literatura científica descreve a formação de nanogéis por radiação gama com fonte de  $^{60}\text{Co}$  e por aceleradores de elétron, entretanto não há descrições sobre o emprego de aceleradores de prótons no preparo de nanogéis. O presente projeto abrange a investigação com a possibilidade de produção de nanogéis por meio de ciclotron, estudo inédito que poderá gerar nanogéis com características, arquitetura e funcionalidade únicas, possibilitando, assim, novas aplicações desse material no âmbito farmacêutico. Os nanogéis serão caracterizados quanto ao tamanho médio de partícula, potencial zeta, índice de polidispersão, morfologia (MEV e MFA), comportamento térmico (DSC e TG) e estrutura (FTIR). Posteriormente, os que apresentarem melhor comportamento serão selecionados para conjugação com insulina, sendo em seguida avaliados quanto à citotoxicidade e capacidade de transporte através da barreira hematoencefálica. Os colaboradores nesse desenvolvimento são o Instituto de Química da USP e a Universidade Técnica de Lodz, na Polônia.

### 13. Desenvolvimento de micropartículas de citrato de ítrio para radiosinovectomia

Nesse desenvolvimento será estudada a síntese controlada de citrato de ítrio coloidal, objetivando uma distribuição de partículas entre 5 e 20  $\mu\text{m}$ , com potencial aplicação no tratamento de artropatias por meio da técnica de radiosinovectomia.

Os radiofármacos aplicados na radiosinovectomia encontram-se basicamente particulados, na forma de coloides ou macroagregados, de preferência de natureza biodegradável. O controle do tamanho da partícula é fundamental no desenvolvimento de um radiofármaco para radiosinovectomia, a fim de evitar o *leaking* do radiofármaco, ou seja, para que não extravase material radioativo para fora da cavidade articular e se acumule em outras regiões do corpo. O tamanho ideal para que as partículas do radiofármaco permaneçam no espaço sinovial deve ser de 5 a 10  $\mu\text{m}$ .

O silicato e o citrato são carreadores já utilizados para aplicações no joelho há muito tempo, porém existem outros materiais que estão sendo desenvolvidos e comercializados para essa mesma finalidade, como a hidroxiapatita, macroagregados de hidróxido férrico e microesferas poliméricas. Apesar disso, existe ainda uma preferência pela administração do tradicional citrato- $^{90}\text{Y}$  por parte de alguns médicos, pois o citrato tende a ser disperso e biodegradado mais facilmente na cavidade sinovial em relação a outros materiais, como a hidroxiapatita. Alguns médicos já demonstraram interesse no citrato de  $^{90}\text{Y}$ , de forma que o desenvolvimento do radiofármaco tem sido alvo de estudos dentro do escopo de pesquisa do IPEN.

Os primeiros resultados obtidos nos estudos mostraram-se promissores quanto à obtenção do coloide de citrato de ítrio por precipitação, podendo as condições de síntese ser ajustadas de modo a modular o tamanho dos aglomerados de partículas. Parâmetros como temperatura, agitação, tempo de reação e proporção dos reagentes têm sido testados. A principal técnica adotada para a medida do tamanho das

partículas é a difração associada a imagens de microscopia eletrônica de varredura.

14. Determinação da ecotoxicidade de produtos com potencial contaminante do meio ambiente, utilizando ensaios com organismos padronizados pelas normas da ABNT

O objetivo principal desse projeto é avaliar a ecotoxicidade de substâncias, utilizando a metodologia descrita na norma NBR 12.713 para *Daphnia similis*, um biomonitor muito utilizado devido a seu fácil cultivo em laboratório e sensibilidade a compostos contaminantes, sendo uma ferramenta muito importante para o monitoramento de ambientes naturais.

A ecotoxicologia é o ramo da toxicologia que estuda os efeitos ocasionados por agentes químicos e físicos, sobre a dinâmica de populações e comunidades, integrantes de ecossistemas definidos. É considerada multidisciplinar, envolvendo as áreas da física, química e biologia. Ao se realizar testes de ecotoxicidade, as análises físicas e químicas são importantes para a avaliação dos resultados, pois com base nessas informações se pode identificar e quantificar as concentrações das substâncias tóxicas; já as análises biológicas avaliam os efeitos dessas substâncias nas biotas.

Os organismos aquáticos podem ser expostos aos agentes químicos presentes na água e nos sedimentos. A bioacumulação, resultante do acúmulo dos poluentes nos tecidos dos organismos vivos, quando não metabolizados ou excretados, pode contribuir para o processo de biomagnificação, quando esse acúmulo é transmitido para o nível superior da cadeia trófica. A ecotoxicologia aquática avalia os efeitos de substâncias químicas sobre os organismos representativos do ecossistema aquático. Esta engloba o transporte, a distribuição, a transformação e o destino final dos contaminantes no ambiente aquático. O desenvolvimento acelerado da ecotoxicologia aquática deveu-se ao conhecimento da toxicidade de efluentes líquidos complexos e das interações entre os agentes tóxicos presentes em efluentes e seus efeitos sobre a

biota aquática. No meio aquático, a toxicidade de agentes químicos é avaliada por meio de ensaios ecotoxicológicos com organismos representativos da coluna d'água ou dos sedimentos de ambientes de água doce, estuarina ou marinha.

O conhecimento da toxicidade desses agentes, para diferentes organismos aquáticos, permite averiguar o impacto temporário que esses poluentes causam sobre a biota dos corpos hídricos, além de permitir a determinação dos limites permissíveis de várias substâncias químicas para proteção da vida aquática.

Muitos estudos têm sido desenvolvidos com a finalidade de comprovar a necessidade de redução dos limites de exposição aos impactos na saúde, causados por níveis de poluição próximos aos recomendados pela Resolução n. 3/90 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, Brasil, 1990). Para que possam ser discutidos os danos à saúde humana provocados por contaminantes ambientais é necessária a estruturação dos sistemas de informação, utilização de técnicas específicas e organismos biomonitores, a fim de que se obtenham dados confiáveis sobre a contaminação do meio ambiente e sobre a saúde da população.

Para tanto são importantes o uso e o desenvolvimento de metodologias adequadas para cada tipo de contaminante, com a finalidade de obter resultados mais próximos possíveis da realidade de cada região. Por meio desses estudos são obtidos diagnósticos da saúde da população de determinada área e seu nexos com os problemas ambientais, seja pela presença de riscos biológicos ou químicos, como parasitas e micro-organismos patogênicos ou agrotóxicos e pesticidas, respectivamente.

15. Determinação da toxicidade de nanopartículas de prata e ouro em cultura celular em ensaio de citotoxicidade e em organismos-teste em ensaios de ecotoxicidade

Objetiva-se, nessa pesquisa, avaliar a toxicidade aguda das nanopartículas de prata e de ouro, em culturas celulares (ensaio *in vitro*) e em organismos aquáticos (ensaio *in vivo*).

O estudo das nanopartículas de ouro (NP-Au) tem grande relevância para a sociedade devido a sua aplicabilidade em diversas áreas, incluindo a saúde, pois as NP-Au são excelentes para aplicações biomédicas. Entre tais aplicações, encontramos a liberação de agentes anti-tumorais, diagnóstico de câncer e terapia genética.

Existem preocupações quanto aos potenciais impactos na saúde e no ambiente ocasionados pela exposição aos nanomateriais. Diferentes estudos têm sido realizados para avaliar a toxicidade dos nanomateriais, abrangendo, principalmente, as interações de diferentes tipos de nanopartículas com organismos aquáticos, plantas e seres humanos. Os estudos levaram ao surgimento da nanotoxicologia, que tem como função principal a avaliação da segurança de produtos provenientes da nanotecnologia, contribuindo para o desenvolvimento econômico, a qualidade de vida e a recuperação e proteção ambiental. Muitas espécies podem ser utilizadas como indicadores de problemas ambientais, já que os contaminantes, quando presentes nos ecossistemas aquáticos, podem gerar impactos em toda a biota. As nanopartículas de prata (NP-Ag), devido a suas propriedades (tamanho pequeno, formato variado e elevada área superficial), podem ser incorporadas facilmente a diversos materiais: curativos, devido a sua capacidade bactericida, para promover cicatrização; no interior de refrigeradores de alimentos, para retardar a deterioração; em palmilhas antimicrobianas, para evitar odores; em purificadores de ar; em instrumentos cirúrgicos. Entretanto, também podem ser responsáveis pelo desequilíbrio ambiental e por causar efeitos nocivos para seres humanos e outros organismos vivos.

Os organismos-teste devem ser de fácil coleta e manutenção em laboratório e precisam estar disponíveis ao longo do ano. O peixe *Danio rerio* (zebrafish) é um importante modelo animal utilizado nas áreas de biologia de desenvolvimento, genética e biomedicina. Devido a essa base de conhecimento, tornou-se um modelo de estudo popular. Como o zebrafish apresenta 70% de semelhança genética com humanos, esse modelo pode ser utilizado para prever efeitos de toxicidade em humanos.

Os ensaios de ecotoxicidade aguda são realizados para observação de efeitos letais de determinadas substâncias e/ou amostras ambientais. São importantes para fornecer informações fundamentais e rápidas para o desenvolvimento e a adoção de critérios para a melhoria da qualidade ambiental. Caracterizam-se pelo curto período de exposição dos organismos-teste a concentrações geralmente elevadas de determinada substância química. Com base nesses ensaios estabelece-se a concentração letal (CL50), ou seja, a concentração que causa a letalidade de 50% dos organismos no ensaio. A *Daphnia similis* (Crustacea, Cladocera) é um microcrustáceo planctônico, com comprimento máximo de 3,5 mm, que atua como consumidor primário na cadeia alimentar aquática e se alimenta pela filtração de material orgânico particulado em suspensão. Os organismos desse gênero são vulgarmente conhecidos como pulga-d'água e têm larga distribuição no hemisfério norte. Por meio desses ensaios é determinada a concentração efetiva CE50. Nesse projeto há parcerias com o Instituto Adolfo Lutz e o Instituto Butantan.

16. Implementação do modelo animal *Danio rerio* (zebrafish) nos ensaios de toxicidade *in vivo*

Objetiva-se a utilização do peixe *Danio rerio* (zebrafish) como modelo animal para ensaio de toxicidade *in vivo*.

Os peixes são animais vertebrados e representam consumidores de ordens diversas: primários, secundários ou terciários. São utilizados como bioindicadores por se desenvolverem bem em cultivo de laboratório e por serem de fácil observação. Os ensaios que utilizam peixes têm por objetivo compreender como um agente tóxico afeta organismos de maior grau de estruturação como os vertebrados. O peixe *zebrafish* (*Danio rerio*) é um importante modelo animal utilizado nas áreas de biologia de desenvolvimento, genética e biomedicina. Devido a essa base de conhecimento, tornou-se um modelo de estudo popular. Como o *zebrafish* apresenta 70% de semelhança genética com humanos, bem como semelhanças fisiológicas e anatômicas, incluindo células endoteliais,

presença de barreira hematoencefálica e respostas imunogênicas, o modelo pode ser utilizado para prever efeitos de toxicidade em humanos. Além disso, *zebrafish* e mamíferos mostram respostas fisiológicas semelhantes às substâncias tóxicas, como a indução de enzimas metabolizadoras e estresse oxidativo.

O *zebrafish* apresenta muitas vantagens sobre outros modelos de animais. Pertencente à família *Cyprinidae* e com comprimento médio de 4 a 5 cm, não é necessário um grande espaço para o manejo desse peixe, e já que vive em cardumes na natureza, em condições laboratoriais pode ser mantido em grande número em um mesmo aquário. Além da taxa reprodutiva elevada e do rápido desenvolvimento embrionário (fora do corpo materno), esse modelo é fácil de manter sob condições experimentais e barato em comparação com outros modelos animais tradicionais, como os ratos. Em comparação com as demais espécies de peixe, alcançam a maturidade sexual aos 3 meses de vida e podem produzir 200 a 300 ovos por desova. Como a fertilização é externa e os ovos são transparentes e grandes, pode-se acompanhar o desenvolvimento do embrião utilizando um estereomicroscópio simples. Os precursores de todos os órgãos já estão presentes 36 horas após a fertilização. As larvas eclodem entre 48 e 72 horas, e no quinto dia após fertilização a maioria dos tecidos já está desenvolvida. Nesse projeto há uma parceria com o Instituto Butantan.

17. Estudo de substâncias radiomodificadoras utilizando organismos-teste (*Daphnia similis*, *zebrafish*)

Esse desenvolvimento visa avaliar os efeitos de substâncias radiomodificadoras, a fim de compreender os mecanismos de ação em ensaios *in vivo*.

Os efeitos ocasionados pela radiação podem ser minimizados por substâncias radioprotetoras ou podem ser potencializados por substâncias que são conhecidas como radiosensibilizadoras. O estudo de substâncias com essas características pode oferecer melhor proteção a

trabalhadores ocupacionalmente ou acidentalmente expostos a radiações ionizantes ou até mesmo ser útil em tratamentos de saúde que utilizam a radiação, como a radioterapia.

A radiação gama pode ser utilizada com diversas finalidades, entre elas a terapêutica. Após a exposição, até mesmo as células normais podem sofrer danos causados ao DNA, ocasionando a mutagênese e a carcinogênese. Por esse motivo há um grande interesse na utilização de compostos não tóxicos com a finalidade de proteger essas células e, pelo mesmo motivo algumas espécies de plantas, que são incluídas na dieta como substâncias antioxidantes e propriedades medicinais, chamam a atenção.

Tradicionalmente, substâncias radioprotetoras são definidas como agentes administrados antes da irradiação, enquanto agentes terapêuticos são administrados após a exposição. Levando em consideração que os danos da radiação envolvendo espécies reativas de oxigênio apresentam eventos contínuos, essa classificação pode ser irrelevante, uma vez que muitos antioxidantes, que ocorrem naturalmente, possuem um leque grande de proteção, incluindo a proteção pós-irradiação, relacionada a letalidade e mutagênese. De modo geral, o uso potencial desses agentes é de grande importância e deve ser estudado a fim de entender os mecanismos de ação. No projeto há parcerias com o Instituto Butantan e a CETESB.

#### 18. Estudo da ecotoxicidade de nanopartículas de ouro

Objetiva-se avaliar a ecotoxicidade aguda das nanopartículas de ouro, utilizando como organismos-teste embriões do peixe *Danio rerio*.

Tal como acontece com qualquer nova tecnologia farmacêutica ou outra tecnologia de saúde, é necessário compreender o mecanismo completo da biocompatibilidade de nanopartículas de ouro (NP-Au) e garantir que o potencial de perigo seja reduzido. Em comparação com os dados de toxicidade *in vitro* disponíveis, foram realizados poucos estudos toxicológicos *in vivo* sobre as NP-Au. A avaliação da citotoxicidade

de determinadas NP-Au fornece informações muito importantes, mas consideradas insuficientes quando isoladas, pois não trazem informação sobre o impacto dessas nanopartículas no organismo vivo, nem refletem os efeitos toxicológicos, sobretudo em exposições prolongadas ou crônicas. Apesar de ambas as abordagens serem necessárias para uma avaliação da segurança das NP-Au, os ensaios *in vivo* se aproximam mais do potencial de perigo para os humanos. O peixe *Danio rerio* (*zebrafish*) apresenta-se como um modelo *in vivo* alternativo, rápido, de alto rendimento, rentável, facilmente acessível e confiável, que possui boa correlação com modelos *in vitro*. Dessa maneira, o *zebrafish* foi escolhido no presente estudo como organismo-teste para avaliar a toxicidade das nanopartículas de ouro durante o estágio embriolarval.

O estudo das nanopartículas de ouro (NP-Au) tem grande relevância para a sociedade devido a sua aplicabilidade em diversas áreas. As NP-Au são excelentes para aplicações biomédicas. Entre tais aplicações encontramos a liberação de agentes antitumorais, diagnóstico de câncer e terapia genética. Existem preocupações com os potenciais impactos ambientais e a saúde ocasionados pela exposição aos nanomateriais. Diferentes estudos têm sido realizados para avaliar a toxicidade dos nanomateriais, abrangendo principalmente as interações de diferentes tipos de nanopartículas com organismos aquáticos, plantas e seres humanos. Esses estudos levaram ao surgimento da nanotoxicologia, que tem como função principal a avaliação da segurança de produtos provenientes da nanotecnologia, contribuindo para o desenvolvimento econômico, a qualidade de vida e a recuperação e proteção ambiental.

Os ensaios de ecotoxicidade aguda são realizados para a observação de efeitos letais de determinadas substâncias e/ou amostras ambientais. São importantes para fornecer informações fundamentais e rápidas para o desenvolvimento e adoção de critérios para melhoria da qualidade ambiental. Caracterizam-se pelo curto período de exposição dos organismos-teste a concentrações geralmente elevadas de determinada substância química. Com base nesses ensaios se estabelece a concentração letal (CL50), ou seja, a concentração que causa a letalidade de

50% dos organismos no ensaio. O Instituto Butantan participa desse desenvolvimento em parceria.

19. Estudo da ecotoxicidade de nanopartículas de prata reduzidas por peptídeos e estabilizadas com goma-arábica

A avaliação da toxicidade aguda das nanopartículas de prata, reduzidas por peptídeos e estabilizadas com goma-arábica, será estudada em culturas celulares (ensaio *in vitro*) e em organismos aquáticos (ensaio *in vivo*).

Devido a suas propriedades, como tamanho, formato variado, elevada área superficial e alto poder bactericida, as nanopartículas de prata (NP-Ag) vêm sendo amplamente utilizadas em diversos setores da indústria: curativos, devido a sua capacidade bactericida; no interior de refrigeradores de alimentos, para retardar a deterioração; em palmilhas antimicrobianas, para evitar odores; em purificadores de ar; em instrumentos cirúrgicos etc.

Sua ampla utilização tem provocado grande preocupação na área acadêmica, principalmente ecotoxicológica, quanto aos impactos e riscos potenciais que podem causar ao meio ambiente e à saúde humana. Sendo assim, é importante a determinação da toxicidade em várias espécies de interesse biológico por meio de ensaios *in vitro* e *in vivo*. Os organismos-teste devem ser de fácil coleta e manutenção em laboratório e precisam estar disponíveis ao longo do ano. As *Daphnia similis* são amplamente distribuídas nos corpos d'água doce, são fonte significativa de alimento para peixes e são importantes em muitas cadeias alimentares. Trata-se de organismos facilmente cultivados em laboratório, sensíveis a vários contaminantes do ambiente aquático e que, devido a seu tamanho reduzido, necessitam de menores volumes de amostras-teste e água de diluição. O *Danio rerio*, popularmente conhecido como peixe-zebra (*zebrafish*) ou paulistinha, é uma espécie de peixe tropical, ovípara, omnívora, com comprimento médio de 4 a 5 cm. Há inúmeras vantagens em sua utilização como modelo experimental. A

criação e a manipulação são de fácil acesso e baixo custo. A fecundação é externa. A cada desova, a quantidade de ovos obtida é elevada. Os ovos são transparentes e não adesivos, fato que facilita a observação das etapas embrionárias.

Os ensaios de ecotoxicidade aguda são realizados para observação de efeitos letais de determinadas substâncias e/ou amostras ambientais. São importantes para fornecer informações fundamentais e rápidas para o desenvolvimento e adoção de critérios para a melhoria da qualidade ambiental. Caracterizam-se pelo curto período de exposição dos organismos-teste a concentrações geralmente elevadas de determinada substância química. Com base nesses ensaios se estabelece a CE50 (concentração efetiva que causa imobilidade a 50% dos organismos expostos) para a *Daphnia similis* e CL50 (concentração letal que causa mortalidade a 50% dos organismos expostos) para o *Danio rerio*. A Universidade do Missouri é parceira nesse desenvolvimento.

#### 20. Estudo do efeito terapêutico de nanopartículas de ouro em câncer induzido em *Danio rerio*

Objetiva-se avaliar o possível potencial terapêutico das nanopartículas de ouro em embriões de *zebrafish* portadores de tumor.

Durante as últimas décadas, grande parte dos orçamentos nacionais de ciência foi dedicada à pesquisa do câncer. Esse fato resultou em uma série de importantes descobertas científicas, como os estudos em cultura de tecidos que ampliaram o conhecimento sobre a fisiopatologia das células cancerígenas. Os modelos animais de roedores forneceram informações significativas sobre a biologia do desenvolvimento de células cancerígenas, porém a taxa de morte por alguns tumores malignos ainda é alta.

Dessa maneira, modelos animais alternativos são necessários, e em torno deles a biologia das células cancerígenas, a biologia do desenvolvimento e o tratamento podem ser estudados de forma integrada. O peixe *Danio rerio* (*zebrafish*) oferece uma série de características, como

rápido desenvolvimento, genética tratável, adequação para imagens *in vivo* e triagem química, que o tornam um modelo atraente para a pesquisa sobre o câncer. As nanopartículas de ouro (NP-Au) são excelentes para aplicações biomédicas. Entre tais aplicações encontramos a liberação de agentes antitumorais. O ouro é considerado inerte e também biocompatível. O composto fitoquímico mangiferina foi utilizado como agente redutor na síntese de NP-Au funcionalizada para penetrar nas células tumorais da próstata. Foi concluído que a mangiferina foi empregada com sucesso como agente de redução, e as nanopartículas de ouro penetraram nas células cancerígenas de próstata.



Reator nuclear  
a serviço da saúde

IPEN possui, desde sua fundação, o pioneirismo na operação e utilização do reator nuclear de pesquisa no Brasil, o IEA-R1, para diversas finalidades (Figura 19). Nele é realizada pesquisa científica de excelência nas áreas de física nuclear experimental e da matéria condensada, bem como de análise por ativação neutrônica. Além disso, o IPEN presta serviços de irradiação com nêutrons, produção e calibração de fontes radioativas e análises por ativação neutrônica.

19 Procedimento para irradiação de amostras no reator nuclear IEA-R1. Ao fundo, observa-se o núcleo do reator com o efeito Cherenkov. Crédito: E. R. Paiva.



No período do pós-guerra, mais precisamente em 1953, o então presidente estadunidense Dwight Eisenhower propôs um projeto chamado “Átomos pela Paz” (*Atoms for Peace*), que visava levar os benefícios da recém-descoberta tecnologia nuclear para os países aliados dos EUA. Dentro dessa iniciativa, foi incentivada a construção de reatores nucleares de pesquisa ao redor do mundo, e por meio dela foi construído o primeiro reator nuclear do Brasil, o IEA-R1. Esse reator foi implantado no recém-inaugurado Instituto de Energia Atômica em 1956, no interior do então praticamente deserto campus da USP no Butantã, que na época contava com apenas 2 ou 3 edifícios. Nos anos que seguiram, o reator, projetado para operar à potência de 5 MW, foi operado a 2 MW, sendo amplamente empregado para a produção de radioisótopos (desde 1959, quando ocorreu a primeira produção de  $^{131}\text{I}$ ) e, sobretudo, em pesquisas de ciência básica e aplicada que empregavam o reator como fonte de radiação.

Dentre as pesquisas desenvolvidas nesse período, pode-se ressaltar os trabalhos em metrologia das radiações, física nuclear, química e física do estado sólido. Os trabalhos se desenvolviam tanto utilizando instrumentos dedicados instalados nos canais de irradiação do reator, por exemplo, espectrômetros e difratômetros, como irradiando amostras diretamente com os nêutrons oriundos da fissão nuclear e analisando-as em momento posterior.

Ao longo dos anos, com o desenrolar do acordo nuclear Brasil-Alemanha e a construção da usina nuclear de Angra 1, o reator IEA-R1 passou a ter importante papel no treinamento dos operadores de reatores nucleares para o Brasil. Em meados da década de 1990, com o crescimento da demanda por radioisótopos produzidos em reator, o IEA-R1 passou por uma grande modernização, e sua potência de operação cresceu gradualmente até atingir 4,5 MW, em operações contínuas de 120 horas semanais; o aumento permitiu também uma ampliação nas pesquisas efetuadas no reator, melhorando a qualidade e o alcance da pesquisa científica realizada no IPEN.

Atualmente, o IEA-R1 opera em ciclos de 8 horas diárias, 3 ou 4 vezes por semana, dependendo da demanda. O programa de modernização

continua tem estendido a vida útil do reator, permitindo que ele opere com segurança por pelo menos mais uma década. Além do serviço de irradiação com nêutrons para indústria e P&D, o reator tem produzido para hospitais o  $^{153}\text{Sm}$ , usado no tratamento paliativo de metástase óssea, e o  $^{192}\text{Ir}$ , para braquiterapia.

As linhas de pesquisa mais relevantes abrangendo o uso de reator nuclear em aplicações no campo da saúde atualmente em desenvolvimento no IPEN são treze e estão descritas a seguir.

#### 1. Estudo sobre a composição de elementos químicos em produtos farmacêuticos

O objetivo geral dessa pesquisa é desenvolver uma base de dados de elementos químicos em produtos farmacêuticos, incluindo os fitoterápicos e os suplementos dietéticos, para posterior identificação de seus riscos à saúde, devido à presença de elementos tóxicos ou de elementos essenciais em altas concentrações, que pudessem ocasionar danos à saúde humana.

As novas diretrizes da farmacopeia dos EUA, da farmacopeia europeia e a conferência internacional sobre harmonização, que regulam os limites de impurezas de elementos em produtos farmacêuticos, apontam a necessidade de desenvolvimento de métodos confiáveis para a determinação de suas impurezas.

Na manufatura de produtos farmacêuticos, várias fontes podem ocasionar a contaminação por impurezas de elementos químicos. Além disso, vários elementos que não eram comumente usados no passado, por exemplo, os elementos de terras-raras e os elementos do grupo de platina, estão em crescente uso nas indústrias modernas para a produção de novos materiais e produtos acabados, incluindo os produtos farmacêuticos.

As impurezas de elementos químicos podem se originar de diversas fontes, como dos catalisadores e reagentes usados na síntese da substância farmacêutica ativa, dos excipientes (agentes estabilizantes,

aglutinantes, agentes responsáveis pelo sabor, cor, revestimentos, ingredientes ou matéria-prima da substância ativa) e das impurezas oriundas do equipamento usado na manufatura. No caso dos fitoterápicos, que são comercializados sem a apresentação da prescrição médica, podem conter elementos indesejáveis provenientes do solo onde a planta foi cultivada.

Portanto, torna-se de grande interesse aprimorar e aplicar a metodologia de análise por ativação com nêutrons (NAA), disponível em reatores nucleares de pesquisa, para determinação das impurezas nos produtos farmacêuticos. As vantagens dessa técnica são inúmeras: ser um método não destrutivo, requerer pequena quantidade de amostra, possuir baixos limites de detecção na ordem de ng/g para vários elementos e não necessitar de dissolução da amostra.

A obtenção de dados confiáveis dos elementos-traço em drogas farmacêuticas pela NAA poderá contribuir para as indústrias farmacêuticas no controle de produtos farmacêuticos, de fitoterápicos e de suplementos dietéticos. Além disso, os resultados das análises dos produtos farmacêuticos podem ser utilizados para avaliar os riscos à saúde e o impacto dos elementos encontrados sobre a saúde humana.

## 2. Correlação de elementos químicos com doenças degenerativas do cérebro

Nessa pesquisa, o objetivo principal é determinar elementos em diferentes áreas do cérebro de indivíduos cognitivamente normais e com declínio cognitivo e doenças mentais, para posterior aplicação dos dados no estudo da correlação com as doenças neurodegenerativas.

No Brasil, o aumento da expectativa de vida e da população de idosos tem levado a um crescente número de indivíduos dementados ou portadores de doença de Alzheimer. Conseqüentemente, os quadros de demência têm-se tornado cada vez mais prevalentes, assim como a taxa de incidência da doença, como um dos problemas de alta relevância da saúde pública.

Numerosas hipóteses sobre a etiologia das doenças degenerativas têm sido sugeridas, incluindo defeitos genéticos, defeitos no metabolismo da membrana, processos mediados por radicais livres, neurotoxicidade de elementos-traço ou a combinação desses fatores. Dessas hipóteses, uma que tem ganhado considerável atenção é a do envolvimento da toxicidade dos elementos-traço. Diversos elementos são essenciais em muitas reações biológicas, entretanto qualquer variação em suas concentrações em relação aos níveis considerados ótimos para um funcionamento eficiente em cérebros normais pode influenciar na função cognitiva.

Os resultados da análise elementar e da avaliação clínica e neuropatológica são praticamente inéditos no Brasil, o que representa um desafio e uma possibilidade de desenvolvimento de novos estudos. O objetivo desse projeto é determinar as concentrações de elementos em diferentes regiões do cérebro de uma população de indivíduos idosos, cognitivamente normais, para a definição de valores basais ou faixas de referência de concentrações de elementos. Também se almeja estudar a correlação entre as concentrações de elementos dos cérebros de indivíduos e o declínio cognitivo e as doenças cerebrais (doença de Alzheimer).

Esses dados são de grande interesse para as pesquisas da área da geriatria, de modo a identificar os fatores que levam ao desenvolvimento de doenças degenerativas e de condições crônicas que conduzem ao envelhecimento físico. A metodologia de análise por ativação com nêutrons (NAA) a ser utilizada nesse projeto apresenta características favoráveis para análises de tecido cerebral, e entre os elementos a serem quantificados estão Br, Ca, Cl, Co, Cs, Fe, K, Mn, Na, Rb, Se e Zn. Há uma parceria com a Faculdade de Medicina da USP nesse trabalho.

### 3. Biomonitoramento da poluição ambiental para estudo da correlação entre elementos poluentes e taxas de mortalidade

O objetivo desse trabalho de pesquisa é analisar biomonitores (líquens e cascas de árvores) para a aplicação no monitoramento da

poluição aérea e estudo da correlação existente entre seus teores de elementos químicos e a taxa de mortalidade de indivíduos por doenças cardiorrespiratórias.

A preocupação com a poluição do ar e seus efeitos sobre a saúde pública impulsionou importantes programas para reduzir os níveis de poluentes em muitos países, e o Brasil não foi uma exceção. Dentro desse contexto, o objetivo da pesquisa é analisar biomonitores (cascas de árvores e líquens) da Região Metropolitana de São Paulo (RMSP) para avaliar os níveis de elementos poluentes e seus efeitos na saúde da população. A utilização de biomonitores é considerada uma ferramenta bastante apropriada para avaliar a poluição aérea quando comparada com métodos de medições diretas como em filtros de ar, que requerem alto custo de investimento e de manutenção para monitoração de áreas urbanas relativamente pequenas.

Assim, o uso de biomonitoramento é útil para complementação dos métodos convencionais de instrumentação para medição de concentrações de elementos químicos. Nessa pesquisa são analisadas espécies de biomonitores muito comuns e dominantes em diferentes distritos da RMSP. As amostras são coletadas e tratadas conforme protocolos previamente estabelecidos, e os elementos químicos são quantificados pelo método de análise por ativação com nêutrons (NAA), disponível no reator nuclear de pesquisas do IPEN. Para controle de qualidade dos resultados analíticos, materiais de referência certificados (MRCs) são analisados junto com as amostras de interesse. Para estudo da correlação entre os teores de elementos encontrados e as taxas de mortalidade da população por doenças cardiorrespiratórias é utilizado o banco de dados da Secretaria da Saúde do Município de São Paulo. As correlações significativas encontradas entre as concentrações dos elementos dos biomonitores e as taxas de mortalidade de indivíduos podem fornecer indicações de possíveis causas de mortalidade.

Resultados obtidos têm indicado que as emissões veiculares e industriais são as fontes de origem dos poluentes na RMSP. Os dados obtidos têm demonstrado que o biomonitoramento é um método eficiente

e de baixo custo, podendo ser aplicado em áreas sem infraestrutura de monitoramento convencional de poluição do ar, e também fornece a possibilidade de identificar fontes de emissão e riscos à saúde humana. Parcerias com a Faculdade de Medicina da USP e o Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo são fundamentais na condução dessa pesquisa.

#### 4. Monitoramento de poluição marinha com moluscos

O objetivo principal desse projeto consiste em avaliar a exposição, os efeitos e a bioacumulação de contaminantes em moluscos, como o mexilhão *Perna perna* e o vôngole *Anomalocardia brasiliiana*, nativos das praias de Caraguatatuba, coletados em duas estações diferentes.

O processo desordenado da industrialização originou graves problemas de poluição para o meio aquático. As áreas costeiras são muito utilizadas para a disposição de efluentes urbanos e industriais, sem o devido tratamento, acarretando a contaminação das águas e da vida marinha por diversos poluentes. Pode-se verificar, mundialmente, o aumento nos níveis desses contaminantes, e essa constatação tem levado à formulação de estratégias para diminuir o impacto causado nesses ecossistemas. O grau de poluição destes pode colocar em risco a saúde das populações ribeirinhas, que utilizam essas águas tanto para a pesca quanto para o lazer.

A metodologia proposta nesse estudo inclui a avaliação da bioacumulação sazonal dos elementos As, Cd, Co, Cr, Fe, Hg, Pb, Se e Zn, pelos métodos de análise por ativação com nêutrons instrumental (INAA) e espectrometria de absorção atômica, ET AAS e CV AAS. Também será avaliada a integridade da membrana lisossômica, utilizando biomarcador celular (tempo de retenção do vermelho neutro) como indicador de efeito de poluentes. A atividade dos biomarcadores de exposição ou defesa – *Glutathione-S-transferase*, *Glutathione Redutase*, *Glutathione Peroxidase* e *Catalase* – como indicadores de exposição a poluentes deve ser estudada.

Na sequência, será feita uma comparação dos dados obtidos na Praia da Cocanha/SP com dados anteriores do grupo. Verificar-se-á, então, se os teores de contaminantes inorgânicos nas amostras estudadas apresentam-se acima dos valores estabelecidos pela legislação brasileira. Objetiva-se a identificação das relações entre os níveis de bioacumulação dos elementos e as respostas adquiridas pela utilização dos biomarcadores, de forma integrada, mediante análises multivariadas (análise fatorial), visando a uma avaliação sinótica da exposição e dos efeitos dos contaminantes.

As parcerias nesse projeto são com o Instituto Oceanográfico da USP e a UNIFESP – Departamento de Ciências do Mar. O ensaio ecotoxicológico do tempo de retenção do corante vermelho neutro será realizado no Laboratório de Ecotoxicologia Marinha e Microfitobentos do Instituto Oceanográfico da USP (Lecotox), e as análises dos biomarcadores de exposição serão realizadas no Laboratório de Ciências do Mar da UNIFESP, campus Baixada Santista. Para as análises químicas, as amostras serão pré-tratadas no laboratório da Base de Ubatuba e encaminhadas ao Laboratório de Análise por Ativação Neutrônica do IPEN.

##### 5. Determinação de mercúrio em habitantes possivelmente expostos de áreas de garimpo

O objetivo do presente trabalho é avaliar, sob os aspectos clínicos, laboratoriais, ambientais e alimentares, a exposição ao mercúrio em crianças residentes em área de garimpo no município de Chapada de Natividade, no estado do Tocantins. Aplicam-se tratamentos estatísticos para comparar os valores de concentração de mercúrio obtidos nas amostras de cabelo na região estudada, que pertence a uma região de garimpo (Município de Chapada de Natividade/TO) com os valores de uma região de referência, situada em região que não possui garimpo (Município de Porto Nacional/TO).

O mercúrio (Hg) é um metal com potencial para causar neurotoxicidade, principalmente quando encontrado na forma química de

metilmercúrio (MeHg). A contaminação humana com níveis elevados de MeHg pode ocorrer pela ingestão de seres vivos aquáticos contaminados, mediante atividades humanas e nesta forma, tem meia-vida de 70 a 80 anos no corpo humano.

A exposição crônica em garimpos pode levar a problemas neurocomportamentais, a manifestações gerais como: tremores, vertigem, dor de cabeça, cãibra, fraqueza, entorpecimento, depressão, distúrbios visuais, dispneia, tosse, inflamações gastrointestinais, queda de cabelo, quadros de cardiotoxicidade, danos ao desenvolvimento fetal, nefrotoxicidade, náuseas, vômitos e apresentar-se de forma subclínica, por vezes sendo necessário o uso de testes específicos para detectar a contaminação.

Amostras de cabelo são amplamente utilizadas em diversos estudos para a avaliação dos níveis de exposição ambiental por via alimentar ao mercúrio em humanos, pois este é capaz de concentrar de 250-300 vezes os níveis de MeHg em comparação com amostras de sangue. Outra vantagem da amostra de cabelo, é que sua velocidade de crescimento de 1 cm por mês, permite a avaliação da exposição passada. Entretanto, a concentração de mercúrio no cabelo pode sofrer variações como resultado de exposição a vapores de mercúrio ou ao mercúrio inorgânico, pela interferência de tratamentos cosméticos no cabelo ou pelo local de coleta da amostra.

Realizou-se um estudo transversal com crianças residentes nos municípios de Chapada da Natividade e Porto Nacional, no estado de Tocantins, onde foi realizada a coleta de cabelo para análise laboratorial dos teores de mercúrio, comparando-se com relação aos municípios, gênero, consumo mensal de peixe, profissão dos pais e presença de amálgama em restaurações dentárias. As amostras de cabelo foram analisadas pelos métodos de análise por ativação com nêutrons (AAN) e também por meio do equipamento DMA (*Direct Mercury Analyser*), sendo este último em parceria com a CETESB.

Não foram encontradas evidências de doenças causadas pelo mercúrio nas crianças estudadas. A concentração média de mercúrio em crianças em Chapada da Natividade foi significativamente maior do

que as de Porto Nacional. Não houve relação significativa entre concentrações de mercúrio e o gênero, consumo mensal de peixe, profissão dos pais e presença de amálgama em restaurações dentárias. Análises de amostras de peixes mais consumidos na região exposta ao garimpo apontaram concentrações de mercúrio abaixo dos valores recomendados, necessitando de estudo mais aprofundado. Os resultados sugerem que as crianças habitantes em região exposta ao garimpo sofrem maior exposição ambiental ao mercúrio, independentemente de seus hábitos alimentares ou gênero. Há uma parceria com a CETESB nesse trabalho.

#### 6. Determinação de impurezas radionuclídicas em radiofármacos

Objetivam-se o desenvolvimento e a validação de técnicas analíticas para a determinação de impurezas emissoras  $\alpha$  e  $\beta^-$  para o controle da pureza radionuclídica dos radiofármacos produzidos no IPEN.

Os métodos que se propõe desenvolver nessa pesquisa baseiam-se em medições com cintiladores líquidos, cada vez mais utilizados mundialmente para a determinação da atividade de radionuclídeos emissores alfa e beta. Dentre as técnicas de medição conhecidas, destaca-se a *Triple-to-Double Coincidence Ratio* (TDCR), por ser uma técnica de medida absoluta, que não necessita do conhecimento de outros parâmetros além das múltiplas coincidências entre as três fotomultiplicadoras pelas quais é composto.

Embora os principais laboratórios internacionais possuam seus sistemas *in loco*, existe no mercado um equipamento comercial da Hidex Oy, o Hidex 300 SL - *Automatic TDCR Liquid Scintillation Counter*, que possibilita a medida da atividade automaticamente. Esse equipamento é mais adequado para medições com baixas incertezas e não requer conhecimento prévio do complexo cálculo envolvido, destinando-se sobretudo a medidas rotineiras ou de verificação. Medidas de emissores beta-puros são bem adequadas, pois possuem um componente opcional que permite a separação alfa-beta, possibilitando a detecção de radioisótopos emissores alfa mesmo na presença de emissores beta.

No caso desse trabalho, objetiva-se também testar o equipamento para medidas de emissores  $\alpha$  e  $\beta$ . Caso sejam cabíveis tais medições, os processos serão validados pelos métodos descritos na *European Pharmacopoeia* para que sejam empregadas futuramente na rotina de controle de qualidade dos radiofármacos.

## 7. Sintetização e caracterização de nanopartículas magnéticas para aplicações em biomedicina

Os objetivos principais desse trabalho são: (a) desenvolver uma metodologia de preparação de nanopartículas magnéticas para uso em biomedicina, como as ferritas ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{XFe}_2\text{O}_4$  com  $\text{X} = \text{Mn, Co, Ni}$ ), com composições inéditas, obtidas por meio de dopagem com elementos de transição, com relações qualidade/custo tal que possam ser utilizadas regularmente na medicina; (b) desenvolver nanopartículas magnéticas para uso como radiosensibilizadores em feixes de radioterapia; e (c) introduzir uma funcionalidade inédita, que é a incorporação de um elemento radioativo à nanopartícula magnética para permitir, entre outras, por exemplo, uma exposição direta à radiação somente das células do tumor, uma vez que nanopartículas podem ser absorvidas por essas células.

Nanopartículas magnéticas têm sido intensamente investigadas devido a seu grande potencial para o tratamento de tumores. Isso porque, devido ao magnetismo, as nanopartículas magnéticas podem ser dirigidas por meio de um campo magnético externo e transportadas até o local desejado para tratamento. As nanopartículas magnéticas possuem as seguintes funcionalidades principais para uso em biomedicina: (a) como agentes de entrega de medicamentos diretamente ao órgão afetado, possibilitando o uso de uma dose muito menor do composto ativo, o que minimiza os efeitos colaterais; (b) como elementos magnéticos que, uma vez dentro das células tumorais, podem ser excitados por um campo magnético externo, aquecendo o local até provocar a morte dessas células (hipertermia); e (c) como contraste em exames de imagem por ressonância magnética.

Por suas dimensões, as nanopartículas possuem propriedades, principalmente magnéticas, diferentes daquelas de materiais com maior volume (efeito *nanoscaling law*). Por exemplo, a magnetização, que é a resposta do material a uma excitação magnética, se intensifica com o aumento do tamanho das partículas e também é diferente dependendo da substituição de parte dos íons de elementos magnéticos por outros. Além disso, as nanopartículas devem ser revestidas com um material biocompatível, que teria a função principal de evitar a aglomeração das partículas e de servir como meio para sua funcionalização. Esses materiais podem também induzir modificações nas propriedades das nanopartículas.

A dopagem de nanopartículas com elementos específicos pode potencializar suas propriedades ou até mesmo dar a estas novas funcionalidades. Um exemplo é a dopagem com um elemento radioativo que ficaria assim fortemente ligado à estrutura cristalina da nanopartícula. Um obstáculo a esse uso é a possibilidade de o elemento radioativo se desprender da nanopartícula e ser absorvido pelo organismo do paciente. Para que isso não ocorra é necessária uma investigação em escala atômica dos efeitos da dopagem na estrutura local na rede cristalina da nanopartícula e sobre como essa dopagem afeta o magnetismo das nanopartículas.

Portanto, sintetizar nanopartículas de boa qualidade a um custo razoável para que possam ser utilizadas regularmente na medicina é ainda um grande desafio e exige técnicas capazes de monitorar as diferentes etapas de sua preparação, além de medir as propriedades finais das nanopartículas com sensibilidade e precisão. Além disso, a investigação do efeito da dopagem em nanopartículas exige técnicas de investigação com resolução subnanométrica, capaz de diferenciar regiões distintas dentro das nanopartículas, uma vez que a dopagem pode induzir a formação de defeitos locais.

Novos materiais produzidos por dopagem de nanopartículas devem ter suas propriedades muito bem investigadas e caracterizadas. Técnicas nucleares, como análise por ativação com nêutrons (NAA), difração de

nêutrons e espectroscopia de correlação angular perturbada (PAC), pelo fato de possuírem resolução atômica com alta sensibilidade, são adequadas para investigar materiais com dimensões tão reduzidas quanto as nanopartículas. Particularmente, a investigação das consequências da dopagem com elementos radioativos será realizada por meio de medidas de interações hiperfinas diretamente no núcleo radioativo dopante.

O uso de técnicas nucleares disponíveis no Brasil, exclusivamente no IPEN, será adaptado para uso específico em nanopartículas, permitindo ao IPEN adquirir capacitação nessa área e ser capaz de oferecer conhecimento à comunidade científica e um novo serviço à comunidade médica. Com o auxílio da caracterização por técnicas nucleares, pretende-se desenvolver uma metodologia de preparação de nanopartículas magnéticas para uso em biomedicina. Serão sintetizadas nanopartículas com composição usual, ou com composições inéditas obtidas por meio de dopagem com elementos de transição, com relações qualidade/custo tal que possam ser utilizadas regularmente na medicina.

Nesse projeto, há parcerias com a Universidade Federal do Pará, com o National Institute of Standards and Technology (NIST), EUA, e com o Departamento de Materiais e Mecânica do Instituto de Física da USP.

#### 8. Desenvolvimento de detectores para aplicações em medicina nuclear

Objetiva-se o desenvolvimento de detectores de raios gama baseados em cintiladores para uso em medicina nuclear. A física nuclear está cada vez mais presente na medicina, fornecendo ferramentas para diagnóstico e terapias com características singulares. As tecnologias envolvidas na detecção de raios X e gama têm evoluído rapidamente nos últimos anos, permitindo a construção de detectores complexos, mais precisos e mais baratos.

Atualmente o mercado de equipamentos para obtenção de imagens médicas com uso de radiação X e/ou gama cresce com rapidez oferecendo à sociedade diagnósticos de melhor qualidade, menos prejudiciais à saúde e a custos menores. Nesse contexto, o desenvolvimento

de detectores que utilizam as novas tecnologias disponíveis contribui para a inserção no mercado de equipamentos sofisticados de imagens médicas de forma mais rápida. A área de medicina nuclear, em particular, deve ser a maior beneficiada com as inovações.

Os avanços recentes nas áreas de materiais cintiladores, semicondutores, de eletrônica e computação têm permitido o desenvolvimento de instrumentos de medição de radiação bastante complexos. A presente linha de pesquisa está relacionada ao acompanhamento da evolução dessas novas tecnologias, que permitem a construção de detectores de radiação X e gama compactos e também sensíveis à posição, os quais têm grande potencial de aplicação na área médica. Entre os tipos de detectores para essas aplicações encontram-se os cintiladores acoplados a fotomultiplicadoras de silício (SiPM), que são o foco principal dos estudos.

Devido às pequenas dimensões, leveza e utilização de baixa tensão de operação, as SiPM permitem uma flexibilidade de uso muito maior que as tradicionais fotomultiplicadoras de tubo, volumosas e que operam com alta tensão. Portanto, conceitos de novos detectores para uso em medicina nuclear podem ser desenvolvidos com a utilização das SiPM, tanto para aplicações em dosimetria de fontes internas como em tomografia PET ou SPECT. Os estudos propostos, além de apresentarem potencial para a obtenção de um produto final de uso direto pela sociedade, envolvem a formação de pessoas em áreas tecnológicas que se encontram em pleno crescimento.

As parcerias envolvidas nesse desenvolvimento são com o IRD/CNEN, no Rio de Janeiro, com o Instituto de Física da USP e com a Faculdade de Medicina, também da USP.

## 9. Determinação de elementos tóxicos (As, Cd, Hg e Pb) em pescado

O objetivo dessa pesquisa é determinar os níveis de elementos químicos tóxicos, tais como arsênio (As), cádmio (Cd), mercúrio (Hg) e chumbo (Pb), em peixes de grande consumo na cidade de São Paulo e comparar os resultados obtidos com os teores máximos permitidos pela

legislação vigente, a fim de contribuir para a garantia da segurança alimentar e, portanto, à saúde no Brasil.

Segundo o *Codex Alimentarius*, contaminantes são quaisquer substâncias não intencionalmente adicionadas aos alimentos e que neles estão presentes como resultado de produção, transformação, processamento, tratamento, embalagem, acondicionamento, transporte ou como resultado de contaminação ambiental. Diversos contaminantes inorgânicos são potencialmente tóxicos, capazes, portanto, de provocar efeitos biológicos adversos quando presentes em concentrações específicas, como é o caso dos elementos tóxicos Cd, Hg e Pb, mesmo em nível traço e, quanto a Co, Fe, K, Se e Zn, superando valores de ingestão diária máxima permitida.

Em ambientes aquáticos, tais elementos estão amplamente distribuídos, e o grau de contaminação no tecido dos peixes pode ser influenciado por fatores como localização geográfica, espécie e tamanho do pescado, local de amostragem, nível trófico, padrões alimentares, tipo de poluente, solubilidade dos produtos químicos e persistência no ambiente. A principal fonte de exposição ao homem para os contaminantes inorgânicos ocorre pelo consumo de alimentos, sobretudo por pescados, contendo os elementos tóxicos.

O monitoramento de elementos tóxicos em alimentos e amostras ambientais é extremamente importante devido aos possíveis impactos adversos das atividades humanas. A determinação de tais elementos, com o rigor metrológico necessário, e a capacitação para a determinação de diferentes espécies químicas, que por sua vez apresentam diferentes toxicidades, é um desafio em todo o mundo. Devido a suas características intrínsecas, as técnicas analíticas nucleares, em particular a análise por ativação neutrônica instrumental (INAA), desempenham papel de destaque na determinação de muitos elementos químicos de interesse, podendo ser utilizadas como método de escolha ou de validação de outros métodos considerados mais convencionais ou mais difundidos.

Nesse contexto, o projeto visa à determinação de diversos elementos, com destaque para os tóxicos, tais como As, Cd, Hg e Pb, e a especiação

de As em amostras de peixes consumidos na cidade de São Paulo. Para isso, tanto a técnica de INAA como a espectrometria de absorção atômica (AAS) serão utilizadas. Há parcerias com a EMBRAPA Pecuária Sudeste e com o Instituto de Energia Nuclear, IEN/CNEN, do Rio de Janeiro.

10. Avaliação dos teores de elementos essenciais, tóxicos e radionuclídeos naturais em dietas, aplicando a análise por ativação com nêutrons e a espectrometria gama. Estudo da dieta total

Objetiva-se aplicar as técnicas de análise por ativação com nêutrons e espectrometria gama para avaliar as ingestões de elementos essenciais, tóxicos e radionuclídeos naturais presentes em dietas de diversas populações brasileiras. Para essas avaliações, é utilizado o Estudo da Dieta Total, que consiste na aquisição de alimentos rotineiramente consumidos pela população, baseando-se em dados de consumo de pesquisas nacionais, preparação como “prontos para o consumo”, elaboração conforme planejamento prévio e análise para os elementos de interesse.

A segurança das dietas da população deve ser considerada uma das funções essenciais para a saúde pública de qualquer país. Apesar disso, pouca atenção tem sido dada a avaliar a real ingestão dietética de elementos químicos, essenciais e tóxicos, por indivíduos, talvez porque se acredite que a maioria dos efeitos potenciais deles seja crônica, aparecendo frequentemente anos após a exposição; assim, os efeitos não podem ser relacionados a alimentos individuais. Em muitas situações, alguns desses efeitos são causados pela exposição a grupos de diferentes elementos químicos, em que as concentrações de cada elemento químico, individualmente, podem ser baixas e dentro dos limites de segurança.

Contudo, quando o grupo de contaminantes é avaliado, a exposição pode se tornar significativa. A necessidade de dietas saudáveis e de boa qualidade requer a habilidade de detectar a presença de possíveis contaminantes, assim como a composição nutricional das mesmas. No Brasil, assim como nos países em desenvolvimento, os dados dos riscos

atribuídos aos elementos tóxicos pela ingestão dietética ainda são escassos, assim como dados de elementos essenciais.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) enfatiza a necessidade de monitorar substâncias químicas presentes nos alimentos, com a preocupação de fornecer à população informações sobre alimentação segura quanto aos elementos cujos efeitos tóxicos afetam a saúde. Da mesma forma, torna-se fundamental conhecer o papel dos elementos essenciais para a promoção da saúde, assim como determinar os elementos tóxicos para que não sejam danosos ao organismo humano. A OMS recomenda o Estudo de Dieta Total (EDT) como o método mais adequado para estimar as ingestões dietéticas de contaminantes e nutrientes para um país ou grandes grupos populacionais. A proposta do EDT é estimar a ingestão dietética de elementos químicos por análise direta em amostras de alimentos, previamente definidos em uma cesta de mercado ou lista de alimentos, constituída por alimentos, ou grupos de alimentos, que reflitam os hábitos dietéticos da população estudada.

Utilizam-se para esses estudos dados nacionais, pois os EDT em geral são elaborados para determinar a ingestão dietética de elementos de interesse em dietas nacionalmente representativas, incorporando as diversas regiões geográficas de um país. Nos trabalhos desenvolvidos no IPEN são utilizados dados de consumos de alimentos fornecidos pelos levantamentos do Planejamento Orçamentário Familiar (POF), realizados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) para a população sudeste do país.

Utilizando-se as técnicas de análise por ativação instrumental (INAA) e a espectrometria de absorção atômica (AAS), serão determinadas as concentrações dos elementos essenciais, como ferro (Fe), selênio (Se) e zinco (Zn), e os tóxicos, como arsênio (As), cádmio (Cd), mercúrio (Hg) e chumbo (Pb) entre outros, nutricionalmente importantes. Utilizar-se-á também a técnica de espectrometria, tanto alfa e beta quanto gama, para determinar os radionuclídeos das séries naturais do  $^{238}\text{U}$  e do  $^{232}\text{Th}$ . Há uma parceria com o LAPOC-/CNEN, de Minas Gerais.

## 11. Caracterização química, mineralógica e radiológica da lama negra de Peruíbe e avaliação clínica dos efeitos da fangoterapia em pacientes com osteoartrite de joelhos

Os objetivos dessa pesquisa são: (a) avaliar a ação terapêutica da lama negra de Peruíbe em pacientes com osteoartrite (AO) de joelho por meio da aplicação dos questionários WOMAC e SF-36; (b) comparar os resultados de duas formas distintas de preparação, sendo uma a maturação convencional como praticada no Lamário de Peruíbe, desde o início de seu funcionamento, e outra a maturação seguida da irradiação da lama negra de Peruíbe com radiação gama para esterilização, além de (c) caracterizar a matéria-prima (lama negra de Peruíbe *in natura*) e o peloide final (lama negra de Peruíbe maturada) quanto a sua composição química, radiológica e microbiológica, a fim de verificar a segurança de seu uso quanto à presença de elementos tóxicos, radioativos e micro-organismos patogênicos.

Embora amplamente utilizada em todo o mundo, os mecanismos de ação terapêutica da fangoterapia ainda não são totalmente compreendidos, principalmente quando se consideram as diferentes origens e composições das lamas utilizadas. Nesse sentido várias hipóteses têm sido levantadas na tentativa de esclarecer tais mecanismos.

A osteoartrite de joelho é uma patologia de alta prevalência e de grande comprometimento da capacidade funcional dos pacientes. A lama negra de Peruíbe tem sido tradicionalmente utilizada no tratamento dessa doença através de aplicações do peloide em sua forma natural, após passar por um processo de descontaminação e maturação com água marinha. Dessa forma, o estudo pretende verificar a eficácia da aplicação da lama em pacientes que apresentam osteoartrite de joelho, bem como fazer uma comparação entre o efeito terapêutico da lama negra de Peruíbe maturada e o da lama negra de Peruíbe maturada e esterilizada por radiação gama, pelo método de observação duplo cego. Os grupos, formados por 25 pessoas, serão acompanhados por um período de 15 semanas. O método de avaliação

é baseado em informações subjetivas colhidas pelos questionários WOMAC e SF36.

Simultaneamente, serão realizadas análises da composição química, radiológica e microbiológica da lama negra de Peruíbe, objetivando um conhecimento sistematizado das características do peloide quanto a possíveis efeitos deletérios sobre a saúde humana. Para a realização dessas caracterizações, serão utilizadas as técnicas de fluorescência de raios X, análise por ativação neutrônica, espectrometria gama e análise elementar. Complementarmente, será proposto um conjunto de técnicas e procedimentos padronizados, visando à criação de um manual de boas práticas para o trabalho com esse material, que poderá inclusive ser empregado de forma regular na aplicação dessa modalidade terapêutica.

Os resultados obtidos até o momento permitem concluir que a lama negra apresenta altos teores de Si e S e baixos teores de Ca, Mg e elementos radioativos. Nenhuma das amostras maturadas ou das irradiadas após maturação apresentou contaminação por coliformes totais, coliformes termotolerantes ou *Staphylococcus aureus*. Os resultados obtidos pela avaliação dos questionários WOMAC e SF-36, pelos pacientes que se submeteram ao tratamento proposto, mostraram-se positivos para a osteoartrite de joelho em todos os domínios observados, exceto os Aspectos Sociais e Saúde Mental, do questionário SF-36. Esses domínios, no entanto, podem estar relacionados a outros fatores além da AO, tal como idade média dos pacientes.

Os resultados obtidos da avaliação radiográfica mostraram que houve remissão na classificação da escala Kellgren e Lawrence em nove dos pacientes, sugerindo que essa melhora clínica é acompanhada de uma recuperação da estrutura da articulação. Importante destacar que a melhora foi observada para os graus II e III da escala K-L, ou seja, assim como em diversos outros tratamentos, a eficácia da fangoterapia é mais bem percebida em estágios iniciais da doença, tendo pouco ou nenhum efeito em seus estágios mais avançados.

A comparação dos resultados obtidos entre o grupo que foi tratado com a LNP maturada e o que recebeu tratamento com a LNP irradiada

após a maturação demonstrou que não houve diferença estatisticamente significativa, indicando que o processo de esterilização por radiação gama não afetou as propriedades terapêuticas da lama.

## 12. Determinação de elementos minerais em fitoterápicos

O propósito desse trabalho é determinar o teor de constituintes inorgânicos em 59 fitoterápicos listados pela ANVISA na Resolução-RDC n. 10, de 9 de março de 2010, bem como nos extratos dessas plantas: umidade, cinzas totais, cinzas insolúveis em ácidos, os elementos As, Ba, Br, Ca, Cl, Cs, Co, Cr, Fe, Hf, K, Mg, Mn, Na, Rb, Sb, Sc, Se, Ta, Ti, Th, U, V, Zn e Zr, por análise por ativação neutrônica, Cu, Ni, Pb e Cd, por espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado, e Hg, por absorção atômica com geração de vapor frio. O objetivo é verificar a qualidade dos produtos, bem como sua concordância com valores de ingestão recomendados, quando existentes.

A demanda por medicamentos à base de plantas vem crescendo mundialmente. A ampliação do consumo tornou necessária a normatização do setor, com implementação e constante revisão de normas técnicas para a produção e comercialização desses medicamentos, visando garantir a segurança no uso e eficácia terapêutica aliada à qualidade do produto. De acordo com dados da Organização Mundial da Saúde, cerca de 80% da população mundial já recorreu aos benefícios de certas ervas com ação terapêutica popularmente reconhecida. Apesar da riqueza da flora brasileira e da ampla utilização de plantas medicinais pela população, existe consenso quanto à insuficiência de estudos científicos acerca do assunto. Portanto, torna-se necessário estimular a realização desses estudos, tendo em vista a importância de seus resultados tanto individuais como sociais.

A determinação dos elementos maiores, menores e traços e a pesquisa desses elementos nos processos metabólicos assim como seus impactos na saúde humana são de grande importância devido ao crescimento da

poluição ambiental, que afeta diretamente as plantas e, por consequência, os fitoterápicos.

### 13. Análise de sangue total via fluorescência de raio X

O objetivo principal desse projeto de pesquisa é a otimização do uso de um equipamento portátil, baseado na tecnologia de fluorescência de raios X, para execução de testes bioquímicos (dosagem de íons) em amostras de sangue total.


Na medicina preventiva, de diagnóstico e/ou de monitoramento de tratamento de disfunções diversas, os testes bioquímicos (tais como: calcemia, calemia, cloremia, dentre outros) realizados em soro são em geral empregados. De acordo com o último Programa Nacional de Controle de Qualidade (ProEx/2017), 4.959 laboratórios de análises clínicas e 44 bancos de sangue atenderam a uma demanda de aproximadamente 72 milhões desses exames (Ca, Cl Fe, K etc.). Entretanto, existe ainda uma carência desses recursos laboratoriais em populações locais em regiões de difícil acesso e, quase sempre, carentes. Por exemplo, o caso da região Amazônica, onde o transporte ocorre em parte por barco, e pode levar dias, inviabilizando a realização do exame.

Com base nessa necessidade, pretende-se disponibilizar uma alternativa para a realização de testes bioquímicos de forma rápida, eficaz e com possibilidade de uso fora das dependências laboratoriais. Nesse projeto, pretende-se aperfeiçoar o uso de equipamento portátil, baseado na tecnologia de fluorescência de raios X, para execução de testes bioquímicos (dosagem de íons) em amostras de sangue e soro, depositados em papel. Esse procedimento apresenta simplificações e vantagens quando comparado aos procedimentos empregados nos laboratórios de análises clínicas, a saber: uso de pequena quantidade de fluido corpóreo (dezenas de microlitros), procedimento não destrutivo, armazenamento da amostra sem necessidade de refrigeração e a possibilidade de realizar várias análises simultaneamente.

Essa alternativa pode ser útil também quando a disponibilidade do material é escassa, caso da clínica pediátrica de prematuros, além da possibilidade de seu emprego em análise de demais fluidos corpóreos (urina, saliva etc.). Há duas parcerias nesse projeto, uma com a Universidade Santo Amaro (UNISA), em São Paulo, e outra com a Saginaw Valley State University (SVSU), nos EUA.

# Desenvolvimento de materiais em saúde





Departamento de Estudos e Desenvolvimento de Materiais foi implantado no IPEN em 1963. Nessa década, as atividades do então Departamento de Metalurgia ficavam voltadas para o domínio de tecnologia de fabricação dos elementos combustíveis para reatores nucleares de pesquisa, tendo produzido os elementos combustíveis para todos os reatores nucleares de pesquisa do Brasil, como os reatores Argonauta e Resuco e o reator subcrítico Sublime.

Na década de 1980, o IPEN, diretamente ligado à Secretaria de Desenvolvimento de Ciência e Tecnologia do Estado de São Paulo, passou a ser gerido pela CNEN, dentro do Programa Nacional de Energia Nuclear. Nessa nova orientação, o Departamento de Materiais passou a contribuir para o esforço da Marinha Brasileira, em seu programa de desenvolvimento tecnológico, no sentido do domínio do ciclo de combustível nuclear e no projeto de um submarino nuclear. As realizações nessa década foram: obtenção do urânio metálico; implantação dos laboratórios de comportamento mecânico e microscopia eletrônica; investigação da metalurgia física de aços; fabricação das varetas combustíveis de aço inox e  $UO_2$  para o reator MB-01; fabricação da primeira carga de pastilhas isolantes de alumina, para o mesmo reator; instalação da produção de óxido de zircônio; produção de zircônio metálico, visando à fabricação da liga Zircalloy para os reatores PWR; implantação das novas instalações de materiais cerâmicos avançados e implantação do laboratório de insumos de terras-raras. Esses resultados ilustram a interdisciplinaridade e o caráter inovador do grupo, envolvendo várias áreas do conhecimento em materiais no que se refere à síntese, ao processamento e a técnicas específicas de caracterização.

O Departamento deu seu primeiro passo na direção dos biomateriais em 1989, quando o IPEN organizou o 1º Encontro de Biomateriais realizado no Brasil. O terceiro encontro desse evento bienal também aconteceu no Instituto, incentivando ainda mais essa nova área de atuação. A partir desse período iniciaram-se os trabalhos e orientações que iriam refletir nas primeiras publicações em biomateriais estruturais e, mais intensamente a partir de 2000, foram apresentados os primeiros projetos em síntese e processamento de biomateriais, efetivando essa área no IPEN com dissertações, teses e patentes.

Dentro do escopo de empreendedorismo, o IPEN forneceu a base para o “*spin-off*” de uma empresa com base tecnológica (BIONZ), tendo como foco a fabricação e o fornecimento de insumos e componentes à base de biomateriais sintéticos e naturais, hoje com filiais no exterior. Atualmente, a pesquisa em biomateriais no IPEN segue as tendências mundiais, inovando e buscando novos caminhos, rotas e aplicações na área e não perdendo oportunidades de interação e colaboração nacional, como a Faculdade de Odontologia da USP, a Faculdade de Medicina da USP, a Faculdade de Odontologia da UNESP, de São José dos Campos, a UNIFESP da Baixada Santista, além de parceiras internacionais, como a Universidade de Toronto, no Canadá, a Universidade do Michigan, nos EUA, e o Instituto de Ciência dos Materiais de Madri, na Espanha.

As linhas de pesquisa relacionadas ao desenvolvimento e às aplicações de materiais no campo da saúde atualmente em desenvolvimento no IPEN são onze e estão descritas a seguir.

1. Fabricação de implantes e próteses por manufatura aditiva usando pós metálicos

O elevado crescimento no uso de implantes e próteses tem provocado uma busca por requisitos superiores de desempenho, em especial nas características de durabilidade (maior tempo de uso sem necessidade de troca ou outros tipos de procedimentos cirúrgicos) e adaptação ao uso (diminuindo o risco de rejeições no interior do paciente).

Portanto, a utilização de novas tecnologias e processamentos, a fim de propiciar melhor qualidade de vida aos seres humanos, vem sendo estudada e desenvolvida.

A aplicação de novas tecnologias e processamentos utilizando biomateriais propicia ampliar a vida útil dos componentes e a qualidade de vida dos seres humanos. Atualmente, as técnicas de manufatura aditiva (MA), especificamente técnicas de impressão 3D, vêm sendo abordadas em grande quantidade no âmbito científico e em diversos mercados industriais. Portanto, o desenvolvimento de componentes na área médica e odontológica torna-se cada vez mais promissor, utilizando a tecnologia de fusão seletiva a laser, cujo termo em inglês tem a denominação *Selective Laser Melting* (SLM).

O objetivo geral desse projeto é consolidar a manufatura aditiva, utilizando o processo de fusão seletiva a laser (FSL) para fabricar próteses e implantes customizados de maior qualidade ao usuário, usando pós das ligas de cobalto-cromo (ASTM F75), aço inoxidável (ASTM F139) e titânio Ti (ASTM F67). Os objetivos específicos desse projeto são: analisar e caracterizar a matéria-prima obtida por atomização a gás; estudar a influência dos parâmetros de fabricação na FSL para consolidação de componentes nas áreas da saúde; criar novas estratégias de escaneamento (sentidos e orientações do feixe laser); avaliar as propriedades mecânicas, microestruturais e de biocompatibilidade de amostras padronizadas consolidadas por SLM e por fundição/usinagem e apresentar os resultados obtidos no desenvolvimento da técnica SLM aos órgãos de certificação (ANVISA e ABNT).

O desenvolvimento do presente projeto deve ser realizado em etapas nesta sequência: obtenção de pós na geometria esférica (atomização a gás) das ligas estudadas, análise das propriedades físicas e químicas dos pós de partida, consolidação de amostras usando FSL com diferentes parâmetros de fabricação, avaliação de propriedades mecânicas e microestruturais das amostras FSL e comparação com amostras fabricadas por outras técnicas, como fusão e usinagem.

A proposta almeja melhorar o processo de consolidação dos pós, visando adquirir propriedades superiores e obter maior eficiência de fabricação, em relação à sequência de fusão e usinagem. Portanto, as amostras consolidadas por FSL que possuam melhores propriedades, a partir da seleção dos parâmetros energia e velocidade do feixe laser, sentido do escaneamento e tamanho da camada de pó, devem ser estudadas e validadas objetivando atender requisitos normativos de próteses e implantes nas áreas médicas e odontológicas. Há uma parceria com a Universidade Federal do ABC nesse desenvolvimento.

## 2. Síntese, processamento e caracterização de cerâmicas odontológicas

O projeto de pesquisa tem como objetivo o estudo de síntese e processamento de cerâmicas odontológicas, utilizadas como material de infraestrutura, restauração e preenchimento de cavidade óssea. Nesse sentido, estão sendo desenvolvidas cerâmicas à base de zircônia, de dissilicato de lítio e de hidroxiapatita. Esses materiais já estão sendo empregados comercialmente, mas ainda apresentam limitações quanto ao processamento, desempenho mecânico quando em função, biocompatibilidade e translucidez, propriedades que são avaliadas no presente projeto. O desenvolvimento está sendo conduzido em cooperação com pesquisadores da área de odontologia, visando atender às necessidades dos profissionais que fabricam as cerâmicas (protéticos) e dos que realizam ou recebem o tratamento dentário (dentista/paciente) (Figura 20).

As cerâmicas odontológicas são materiais biocompatíveis com propriedades mecânicas e estéticas compatíveis com os dentes naturais. As cerâmicas à base de zircônia preenchem essas necessidades, com grande potencial para substituição de próteses, usualmente utilizadas com infraestruturas metálicas, que são menos estéticas, devido ao halo acinzentado na margem gengival. Sobretudo as cerâmicas de zircônia estabilizada com ítria na fase tetragonal (*Y-TZP, yttria tetragonal zirconia polycrystals*) apresentam excelentes propriedades mecânicas como elevadas tenacidade à fratura e resistência mecânica e baixa taxa de desgaste.



No caso das infraestruturas de próteses fixas unitárias, a Y-TZP é cimentada à estrutura dentária, e o aspecto estético é dado pela cerâmica de cobertura aplicada, que pode ser feldspática ou de dissilicato de lítio.

Cerâmicas Y-TZP com maior translucidez foram recentemente introduzidas no mercado odontológico com a proposta de melhora estética e eliminação da cerâmica de cobertura, a qual pode apresentar falhas por delaminação. Apesar de todo o desenvolvimento tecnológico já realizado, alguns aspectos ainda estão sendo estudados para consolidação do uso da zircônia na odontologia, tais como degradação em meio aquoso, aumento da translucidez, redução do desgaste do dente antagonista e redução do custo de processamento cerâmico. Esses aspectos têm sido abordados no presente projeto, avaliando-se as cerâmicas sintetizadas e processadas em laboratório e disponíveis comercialmente. O processo de síntese adotado é a coprecipitação de hidróxidos, e as etapas de processamento incluem a prensagem uniaxial, seguida de sinterização em forno convencional ou de micro-ondas. A rota de síntese adotada permite o estudo de várias composições dos sistemas Y-TZP/titânia, Y-TZP/alumina e Y-TZP/grafeno, visando à melhora da bioatividade e à

**20** Experimento de sinterização de cerâmicas odontológicas em forno de micro-ondas. Crédito: Dolores Ribeiro Ricci Lazar.

compatibilidade das propriedades mecânicas com a estrutura dentária. No caso das cerâmicas de dissilicato de lítio, estuda-se a etapa de tratamento térmico de cerâmicas comerciais por energia de micro-ondas. A síntese química de pós-cerâmicos de fosfatos de cálcio, dentre estes a hidroxiapatita, também tem sido estudada visando à preparação de materiais bioativos para preenchimento de cavidade óssea e recobrimento de implantes dentários.

3. Desenvolvimento de compósitos cerâmicos do sistema  $\text{Si}_3\text{N}_4\text{-SiO}_2\text{-CaO}$  para compatibilidade óssea

O presente projeto de pesquisa visa desenvolver novos biocompósitos de nitreto de silício de forma a contribuir para o conhecimento do comportamento desses materiais para utilização como biomaterial.

O nitreto de silício é um material já consagrado em aplicações estruturais avançadas, devido a sua baixa densidade, inércia química, altas dureza e resistência ao desgaste e relativamente alta tenacidade à fratura. Em vista da crescente necessidade da realização de diferentes procedimentos para regeneração óssea, que requerem materiais com elevadas propriedades mecânicas, combinadas a um comportamento biológico adequado, cerâmicas à base de nitreto de silício vêm sendo cada vez mais consideradas para aplicações na área da biomedicina. Tal interesse deve-se justamente às propriedades mecânicas favoráveis e a sua comprovada osteointegração, capacidade bactericida e adequadas características de imagem, que permitem a visualização do implante por meio de técnicas como raios X, tomografia computadorizada e ressonância magnética. Por outro lado, as características bioinertes das cerâmicas de nitreto de silício, cuja resposta biológica não conduz à formação de ligações químicas com o tecido hospedeiro, motivaram a busca, nesse projeto, pelo desenvolvimento de compósitos densos e bioativos, sem prejuízo das propriedades mecânicas típicas desses materiais.

Assim, dentre os materiais cerâmicos investigados para fins biomédicos, aqueles à base de nitreto de silício têm apresentado grande

potencialidade devido à elevada resistência mecânica, relativamente alta tenacidade à fratura e baixa densidade. Entretanto, a biocompatibilidade dessas cerâmicas depende, dentre outros fatores, das características da fase intergranular, em geral presente e necessária para a consolidação dos componentes finais. Portanto, o objetivo da pesquisa é contribuir com o desenvolvimento de biocompósitos de nitreto de silício contendo a segunda fase com composição dependente do sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO}$ . Sílica e cálcia serão adicionadas ao pó inicial de nitreto de silício para que, após o tratamento térmico de sinterização, promovam a consolidação de biocompósitos com elevadas propriedades mecânicas. Além disso, espera-se que os materiais apresentem características bioativas em função da formação de grupos Si-OH, durante o contato com os fluidos corpóreos, propiciando a deposição de apatita superficial. A influência da adição de diferentes concentrações dos referidos óxidos sobre os biocompósitos propostos será avaliada quanto à densificação, microestrutura, propriedades mecânicas e comportamento biológico *in vitro* e *in vivo*. A Universidade de São Paulo, a Universidade Federal do ABC e a Universidade Ibirapuera são parceiras nesse estudo.

4. Desenvolvimento e aplicação de biomateriais teranósticos: nanopartículas fluorescentes de fosfatos de cálcio dopadas com lantanídeos e magnésio como vetores não virais para terapia gênica

O objetivo principal do projeto é o desenvolvimento e a caracterização de nanopartículas de fosfato de cálcio, dopadas com lantanídeos e/ou magnésio, e o estudo de sua aplicabilidade como vetores não virais para terapia gênica. A síntese dos nanomateriais teranósticos compreenderá a dopagem com  $\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Yb}^{3+}$  e  $\text{Tm}^{3+}$ , a fim de verificar as distintas características que cada íon proporciona ao fosfato de cálcio e escolher aquela de melhores resultados. Pretende-se obter as condições ideais para o transporte bem-sucedido dos ácidos nucleicos ao seu destino. Com essas nanopartículas fluorescentes de até 200 nm serão realizados

ensaios *in vitro* para avaliar a citotoxicidade e a eficiência da complexação com o DNA e da transcrição gênica (Figura 21).

A terapia gênica é uma abordagem terapêutica que pode, teoricamente, ser usada para o tratamento e a prevenção de qualquer doença. Trata-se de uma técnica baseada na transfecção de genes terapêuticos para substituir ou silenciar genes defeituosos. O maior desafio da terapia gênica é o transporte bem-sucedido dos ácidos nucleicos ao seu destino. Diferentes veículos carreadores têm sido investigados, sendo a grande maioria baseada em vírus, que, embora eficientes, contêm envelope proteico que traz sérias limitações devido à biossegurança.

Um vetor não viral sintético na forma de nanopartícula oferece uma alternativa atraente e promissora. Estudos têm demonstrado alta eficiência e biocompatibilidade das nanopartículas de fosfatos de cálcio

**21** Microscopia Eletrônica de Transmissão de nanomateriais para aplicação na área da saúde. Crédito: E. R. Paiva.



(CaP), na forma de hidroxiapatita (HA) e betafosfato tricálcico ( $\beta$ -TCP), como vetores quando comparados a outros carreadores de genes não virais. O íon cálcio do vetor CaP protege o gene contra a degradação e facilita a entrega do ácido nucleico no núcleo da célula-alvo. A grande dificuldade no uso dos vetores CaP é a síntese de partículas homogêneas e monodispersas, de tamanho nanométrico (10 a 200 nm), em condições que permitam a complexação dos genes terapêuticos ao vetor CaP. Nesse contexto, o desenvolvimento de CaP dopados com lantanídeos e/ou cagnésio é muito interessante, pois, substituindo o  $\text{Ca}^{2+}$ , o  $\text{Mg}^{2+}$  e o  $\text{Ln}^{3+}$  permitem a obtenção de nanopartículas menores, devido ao raio atômico menor, e carregadas positivamente, facilitando a complexação com o gene. Ainda, o íon  $\text{Ln}^{3+}$  torna o biomaterial um vetor fluorescente que possibilita seu bioimageamento *in vitro* e *in vivo*, monitorando a entrega do ácido nucleico, tornando-o um nanobiomaterial teranóstico multifuncional.

## 5. Corrosão de biomateriais

O objetivo dessa pesquisa é investigar a resistência à corrosão de ligas de titânio e aços inoxidáveis utilizados como biomateriais para implantes dentários e/ou ortopédicos. Além disso, propor tratamentos de superfície que promovam a osseointegração.

Vários tipos de corrosão podem ser observados em materiais metálicos utilizados na fabricação de implantes, dependendo das condições específicas do meio no qual está inserido esse implante. Assim, alguns dos fatores que têm chamado a atenção para os estudos da corrosão de implantes dentários são as características do meio em que o metal está inserido, podendo ser citadas como possíveis causadores da corrosão as características microbiológicas e enzimáticas do meio bucal, a utilização de metais diferentes, umidade, saliva, variações de temperatura, formação de biofilme, efeito do flúor, efeito do peróxido de hidrogênio, alteração do pH, propriedades físicas e químicas dos fluidos fisiológicos, reações de hipersensibilidade e a presença de oxigênio no meio

corrosivo. É importante também que se desenvolvam tratamentos de superfície que favoreçam a osseointegração do implante.

O titânio e suas ligas são amplamente utilizados na fabricação de implantes dentários e próteses ortopédicas, devido a sua alta biocompatibilidade e resistência à corrosão. Essas propriedades favoráveis para implantação *in vivo* são devidas à capacidade do titânio de formar um filme de óxido apassivador, isto é,  $TiO_2$ , imediatamente após o contato com oxigênio. Essa camada passiva é muito estável e aderente à superfície do titânio durante atuação na cavidade oral. No entanto, até 20% dos indivíduos com implantes dentários desenvolvem peri-implantite, uma doença inflamatória crítica que causa perda da mandíbula e, eventualmente, falha e remoção do implante. A etiologia da peri-implantite não é ainda totalmente conhecida, mas tem sido tradicionalmente considerada associada à infecção microbiana.

Resultados recentes, no entanto, mostraram que os produtos de corrosão de Ti são amplamente aumentados em torno de implantes doentes em comparação com os saudáveis. Essa observação indica que o microambiente ao qual o implante é exposto durante a inflamação peri-implantar é altamente agressivo, levando ao ataque de camada passiva de  $TiO_2$ . No caso dos implantes dentários de liga de titânio, será investigado o efeito da simulação das condições inflamatórias peri-implantares *in vitro* para determinar quais fatores afetam a suscetibilidade à corrosão desse tipo de implante. Estão sendo também avaliados tratamentos de superfície que favoreçam a osseointegração do implante. No caso dos implantes ortopédicos, avalia-se o efeito de deformações uniaxiais na resistência à fadiga-corrosão de aço inoxidável de uso para esse tipo de aplicação em meios que simulem condições de infecção e frestas, ou seja, meios de elevada agressividade.

#### 6. Receptáculos de contenção para transporte de radiofármacos

Esse projeto compreende estudos para a fabricação de recipientes de contenção para transporte de substâncias que sejam fonte de

alta radioatividade, em especial  $^{99}\text{Mo}$  com atividade acima de 0,6 (16,2) TBq (Ci) com blindagem em urânio ou tungstênio. O desenvolvimento inclui a modelagem matemática e a simulação por elementos finitos do desempenho do recipiente de contenção, além de avaliação de materiais em altas taxas de deformação e medida de propagação de pulso de tensão em metais.

É de cunho altamente estratégico o transporte de substâncias que sejam fonte de alta radioatividade em recipientes de contenção, sendo fundamental na questão de segurança no transporte de material nuclear. O IPEN é instituição pioneira na produção de radioisótopos e radiofármacos no Brasil. Tais radiofármacos são produzidos com qualidade controlada para administração em seres humanos na forma de fármacos injetáveis, destinados ao diagnóstico mais preciso, com maior sensibilidade nas imagens obtidas e terapia de inúmeras patologias. São tratadas aproximadamente 2 milhões de pessoas por ano com esses produtos. A fabricação dos geradores de  $^{99}\text{Mo}$ - $^{99m}\text{Tc}$  para os hospitais requer a necessidade do transporte do insumo  $^{99}\text{Mo}$  em recipientes com características muito especiais e resistentes a impacto. A finalidade desse projeto é a avaliação de materiais, a modelagem matemática e os estudos de fabricação de um recipiente nacional para o transporte de  $^{99}\text{Mo}$ , atendendo às futuras necessidades previstas com a construção e operação do Reator Multipropósito Brasileiro (RMB).

Os estudos devem contemplar os critérios estabelecidos internacionalmente (*U.S. Nuclear Regulatory Commission – Regulatory Guide – Office of Standards Development – Reg. Guide 7.6 – Design criteria for the structural analysis of shipping cask containment vessels – March 1978; U.S. Department of Transportation – Research and Special Programs Administration – Radioactive Material Regulation Review – RAMREG-001-98*).

Os resultados terão aplicação imediata na produção de radiofármacos do IPEN, bem como no futuro Reator Multipropósito Brasileiro. O impacto previsto é permitir o transporte de  $^{99}\text{Mo}$  entre as unidades produtoras de radioisótopos no Brasil e no exterior, com tecnologia

nacional. Há parcerias com a Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) e a Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS).

## 7. Desenvolvimento de tecidos e fibras bioativos

Existe uma crescente demanda por novos materiais bioativos implantáveis para a solução de diversos casos cirúrgicos, para os quais ainda não existe solução satisfatória. Fibras ou tecidos em material cerâmico bioativo podem apresentar vantagens, tais como alta área superficial relativa, favorecendo a interação com o organismo hospedeiro, facilidade de manipulação, se comparado a blocos sólidos ou material em forma de grânulos, além da possibilidade de obter *scaffolds* bioabsorvíveis. Nesse contexto, implantes ósseos podem se beneficiar e apresentar soluções inovadoras a partir da disponibilidade de cerâmicas bioativas na forma de fibras e tecidos.

Quatro fatores devem ser considerados no implante de biocerâmicas: (1) índice de bioatividade; (2) área superficial (reatividade); (3) facilidade de manipulação; e (4) formação de *scaffolds* para ancorar células. Para atender tais solicitações propõe-se no presente trabalho de pesquisa a obtenção de fibras de biomaterial bioativo e bioabsorvível, na forma de fibras entrelaçadas e/ou tecido com a posterior aplicação de processo similar ao têxtil. Tais morfologias promovem alta superfície de contato com fluidos corpóreos, podendo ser propícias ao ancoramento de células, e ainda apresentam facilidade de manipulação durante o procedimento cirúrgico.

O estudo de obtenção de tais fibras biocerâmicas baseia-se no processo *Hager-Rosengarth*. Nesse processo, o líquido precursor é estirado desde 1.500 °C por meio da aceleração centrífuga e resfriado pelo ar ambiente, que representa um fluxo em relação à fibra formada, devido à velocidade angular desta.

Resultados preliminares indicam que, com a aplicação desse processo, as biocerâmicas formaram fases amorfas coaxiais na fibra do biomaterial como consequência do super-resfriamento do líquido

precursor. As fibras até o momento obtidas aparentam possuir arranjo vítreo em sua estrutura, distribuídas em regiões coaxiais com gradiente composicional, as quais guardam similaridades com sua contrapartida cristalina. A distribuição composicional coaxial da fibra rege seu mecanismo de dissolução, cuja fase residual apresenta morfologia trabecular, adequada para promover o ancoramento celular e o crescimento de tecidos.

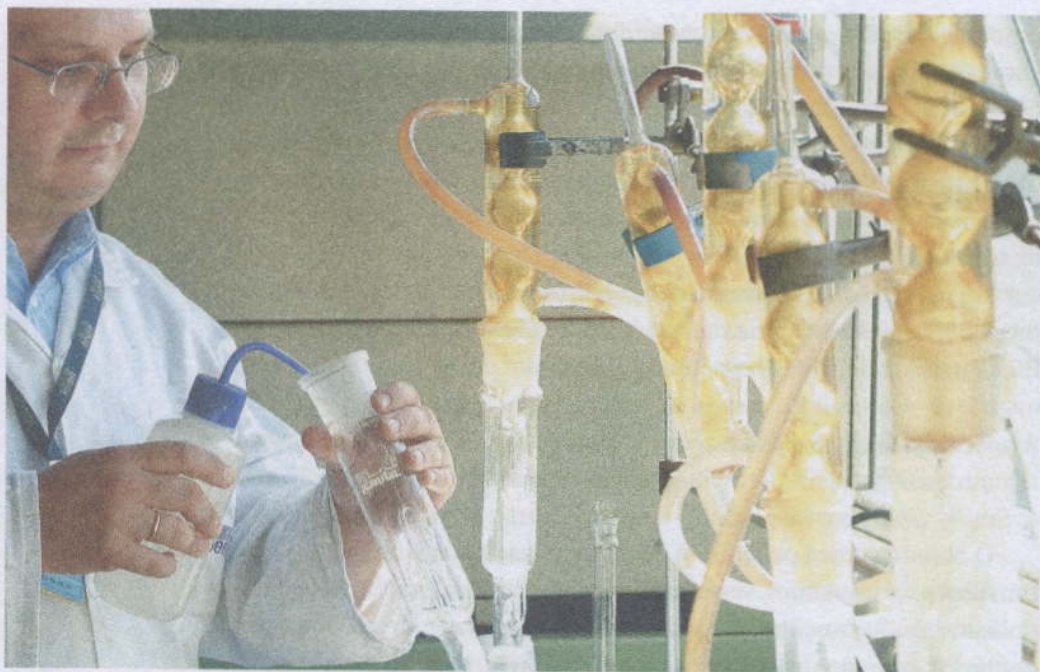
Há parcerias, para esse desenvolvimento, com o Laboratório de Biomateriais e Engenharia de Tecidos (LaBETec) do Departamento de Biociências da UNIFESP em Santos.

#### 8. Recobrimentos vítreos biofuncionais para implantes médicos e odontológicos

O objetivo dessa pesquisa é a funcionalização de vidros biocidas e esmaltes para implantes, visando ao aumento da osteindutividade, multiplicando suas funções e permitindo o uso em implantes cirúrgicos e dentários com menor custo e maior efetividade, para atendimento às populações de baixa renda (Figura 22). Pretende-se, também, atuar nos biovidros (vidros de Hench) em uma etapa mais avançada da pesquisa, trabalhando com a termodinâmica de sua composição e buscando o aumento de sua resistência à dissolução com substituições planejadas em sua composição.

É consenso que biomaterial é todo material, natural ou artificial, que pode ser utilizado de forma segura na fabricação de estruturas para implantes. Deve possuir confiabilidade mecânica, química, física, biológica e econômica e poder reparar, total ou parcialmente, uma parte enferma ou perdida do corpo, devolvendo sua função e contribuindo para a qualidade de vida do ser humano.

Os biomateriais, bem como os dispositivos médicos tecnológicos, são extremamente importantes no cuidado com a saúde. Por isso o desenvolvimento dessas áreas se torna fundamental no campo científico. Além disso, a multidisciplinaridade existente no desenvolvimento



**22** Desenvolvimento de materiais cerâmicos e vitrocerâmicos multifuncionais para atuação como material osteoindutor e biocida. Na foto, teste de solubilidade dos vidros para aplicações de biomateriais. Crédito: Marcello Vitorino/Fullpress.

desse campo contribui de forma bastante significativa para a integração do conhecimento.

São diversos os campos de aplicação para os biomateriais, e entre eles estão o cardiovascular, o oftalmológico, o odontológico e o ortopédico. A introdução de implantes e a possibilidade de correções de pequenos defeitos diminuíram, por exemplo, de maneira significativa os índices de mortalidade provocados por doenças cardíacas, reduzindo-os de 54% na década de 1960 para 20% na década de 1990.

Grande parte dos biomateriais de aplicação ortopédica e odontológica é fabricada com material metálico. São três os grupos prevalentes nos materiais metálicos de aplicação clínica: o aço inoxidável, as ligas à base de cobalto e o titânio e suas ligas. Por isso existe grande preocupação tecnológica em estudar o comportamento desses materiais

em face da biocompatibilidade, tenacidade à fratura, resistência ao desgaste, resistência à corrosão, entre outros. De acordo com o metal adicionado, a reação do biomaterial com o meio biológico pode ter diferentes respostas, o que desempenha importante papel no possível afrouxamento do implante, por meio da contaminação dos tecidos ao redor do local cirúrgico.

A pesquisa tem como proposta desenvolver um material vítreo para recobrimento da superfície de biomateriais metálicos. Atualmente os biomateriais metálicos mais empregados nas áreas médica e odontológica são o titânio e suas ligas, o aço inox e as ligas cobalto-cromo. Mesmo quando apresentam boas características osseointegradoras (materiais biocompatíveis), muitos dos implantes estão sujeitos a infecções durante o pós-operatório e depois dele. Ações que visem simplificar e proteger essas intervenções cirúrgicas têm sido alvo de concentração de esforços, tanto da pesquisa científica como do setor produtivo. Desenvolver materiais capazes de acelerar os mecanismos de osseointegração constitui importante contribuição. Em adição, a possibilidade de acrescentar funções de proteção à infecção bacteriológica (materiais com ação biocida) nesses procedimentos abre um novo horizonte de desenvolvimento para materiais multifuncionais voltados à implantologia.

Nessa proposta é destaque o caráter multifuncional dos materiais de recobrimento, obtidos a partir de compósitos de matriz vítrea, que apresentem resposta positiva na ação de ambas as funções, biocompatibilidade e biocida. Aplicando os conceitos termodinâmicos para o planejamento de composições, serão estudados vidros pertencentes ao sistema  $\text{CaO} - \text{Na}_2\text{O} - \text{SiO}_2 - \text{M}$ . Os metais (M) possivelmente testados serão Ag, Cu, Nb, W, Ta, Zr ou Sr, na forma de nanopartículas, os quais têm demonstrado bons resultados de biocompatibilidade. O desafio científico e tecnológico desse projeto é integrar de forma eficaz funções dissimilares como a osseointegração e a ação biocida em um único material, contribuindo para o processo de recuperação de pacientes. Desse modo, será importante comparar composições, estudar as

diversas atuações dos metais (nanopartículas) em relação às bioatividades, tais como citotoxicidade e taxa de dissolução no ambiente corpóreo, além do que se refere ao comportamento físico, como propriedades mecânicas, molhabilidade e expansão térmica dos materiais em contato (vidro/substrato). Para a execução dos objetivos propostos, fez-se uma parceria com o Instituto de Ciencia de Materiales de Madrid, ICMM/CSIC, na Espanha.

#### 9. Coloração e caracterização de cerâmicas odontológicas à base de zircônia

Essa pesquisa tem por finalidade proporcionar melhorias estéticas às cerâmicas odontológicas de zircônia monolítica para que elas mimetizem as características do dente natural, sem comprometer suas demais propriedades.

Cerâmicas à base de zircônia tetragonal policristalina estabilizada por ítria (Y-TZP) possuem um interessante conjunto de propriedades (biocompatibilidade, elevada resistência mecânica ao desgaste, alta tenacidade à fratura, estabilidade dimensional e baixa condutividade térmica) que as habilitam a, cada vez mais, serem utilizadas na confecção de próteses odontológicas. No entanto essas cerâmicas necessitam de rígido controle de sua microestrutura para eliminar ou reduzir o fenômeno do envelhecimento (*ageing*), que degrada suas propriedades mecânicas. Além disso, as características ópticas da zircônia (muito brancas e opacas) são inadequadas em termos estéticos para sua aplicação odontológica. Diante desses fatos, o estudo busca desenvolver diferentes composições de pigmentos inorgânicos, à base de metais de transição e/ou terras-raras, que modificarão essas propriedades ópticas, visando à mimetização estética do dente natural, sem que isso comprometa suas propriedades mecânicas, sua biocompatibilidade e sua resistência ao envelhecimento. Há uma parceria com a Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

10. Produção de microesferas cerâmicas incorporadas com o radioisótopo  $^{166}\text{Ho}$ , visando a sua aplicação no tratamento de câncer de fígado por radioembolização

O principal objetivo desse projeto é a produção de microesferas à base de  $\text{Al}_2\text{O}_3$  e de  $\text{SiO}_2$ , com a incorporação do radioisótopo  $^{166}\text{Ho}$  ( $^{166}\text{Ho-Al}_2\text{O}_3$  e  $^{166}\text{Ho-SiO}_2$ ) em diferentes proporções, e com as características adequadas, a fim de que sejam utilizadas na terapia de tratamento de câncer de fígado por radioembolização.

A cada ano, mais de 1 milhão de pessoas são diagnosticadas com câncer hepático primário ou secundário, e estima-se que 50% dos pacientes com tumor colorretal primário desenvolverão metástases hepáticas. Considerando que os tumores do fígado são quase exclusivamente vascularizados pela artéria hepática, enquanto seu tecido saudável é vascularizado por meio da veia porta, microesferas radioativas de  $^{90}\text{Y}$ , em uma faixa estreita de tamanho, são administradas por meio de um microcateter na artéria hepática, sendo transportadas de preferência para as arteríolas distais dentro e ao redor dos tumores, de modo a promover a embolização dessas finas artérias. O procedimento interrompe o fluxo sanguíneo para as células cancerígenas simultaneamente com a emissão de radiação  $\beta$  de alta energia, induzindo à morte dessas células.

$^{90}\text{Y}$  não produz radiação gama, impossibilitando a análise da biodistribuição das microesferas por meio de imagens. O  $^{166}\text{Ho}$ , por sua vez, além da radiação beta de alta energia, emite raios gama, permitindo o acompanhamento por imagens nucleares. Também é altamente paramagnético, podendo ser usado tanto para cintilografia (exames quantitativos) como para a ressonância magnética. Dessa forma, o  $^{166}\text{Ho}$  é um candidato bastante atraente a ser empregado na terapia de diversos tipos de câncer, como de medula óssea, de cérebro, fígado, rins, pulmões etc. Além disso, o  $^{166}\text{Ho}$  apresenta uma seção de choque de captura de nêutrons maior que a seção de choque do  $^{90}\text{Y}$ , o que possibilita a produção de  $^{166}\text{Ho}$  de alta atividade em reatores nucleares de pesquisa, como o IEA-R1 do IPEN, reduzindo o custo de produção das microesferas.

Microesferas cerâmicas porosas podem ser produzidas por diferentes métodos, como a gelificação interna e a emulsificação. Pretende-se, a partir desses métodos, produzir microesferas de alumina e de sílica, contendo diferentes quantidades de  $^{165}\text{Ho}$ , com as características físicas e químicas adequadas para sua aplicação na radioembolização. Essas microesferas serão irradiadas no reator de pesquisas IEA-R1, em condições tais que o radioisótopo  $^{166}\text{Ho}$  produzido tenha atividade compatível com a aplicação a que se destina. Na sequência, as microesferas irradiadas serão caracterizadas quanto à atividade específica do radioisótopo  $^{166}\text{Ho}$ , à pureza dos radionuclídeos presentes e à estabilidade química *in vitro*.

11. Produção de microesferas cerâmicas para utilização em colunas de eluição de geradores de  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ , de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  e de  $^{82}\text{Sr}/^{82}\text{Rb}$

Objetiva-se nessa pesquisa o desenvolvimento de: (1) microesferas cerâmicas à base de  $\text{Al}_2\text{O}_3$  com características químicas e físicas adequadas para que possam suprir a necessidade de produzir geradores de  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$  de alta potência e (2) microesferas à base de  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{SnO}_2$  e de  $\text{ZrO}_2$  para serem utilizadas em geradores de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  e de  $^{82}\text{Sr}/^{82}\text{Rb}$ , que ainda estão em fase de desenvolvimento no IPEN.

Geradores de radioisótopos são sistemas de separação contendo, normalmente, um radionuclídeo pai, com meia-vida longa, que, por decaimento, produz um radionuclídeo filho de meia-vida curta. O radionuclídeo de meia-vida curta pode ser extraído periodicamente do gerador. Trata-se basicamente de uma ou mais colunas carregadas com um material cromatográfico que tem o potencial de promover a separação química entre o radionuclídeo pai e o radionuclídeo filho, através da adsorção de um dos radionuclídeos na coluna e da eluição do outro por determinado solvente. Esses materiais adsorvedores seletivos utilizados na coluna podem ser orgânicos ou inorgânicos, sendo que a principal desvantagem dos geradores, que utilizam materiais orgânicos, é o efeito


da radiólise, que degrada esses materiais. De modo geral, os materiais cerâmicos são indicados para essa aplicação.

Microesferas cerâmicas vêm sendo utilizadas ou sugeridas para utilização em diferentes aplicações, desde aquelas relacionadas à área nuclear, para a qual foram inicialmente desenvolvidas, até aplicações mais recentes nas áreas médica, farmacêutica, de energia, química, ambiental, biotecnológica etc. As microesferas podem ser altamente densas ou porosas, variando basicamente quanto ao material, tamanho, porosidade e superfície específica, além de outras propriedades e características que podem ser modificadas ou introduzidas durante o processo de fabricação.

Dentre os diversos métodos desenvolvidos para a produção de microesferas cerâmicas destacam-se aqueles baseados na gelificação interna, que são simples e versáteis e que permitem variações, modificações e adaptações, para que possam ser obtidas microesferas de diferentes materiais e com uma gama de características físicas e químicas. Pretende-se, nesse projeto, partindo dos processos de gelificação interna, com as devidas adaptações e modificações, produzir microesferas à base de diferentes materiais ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{ZrO}_2$ ,  $\text{SnO}_2$  e  $\text{TiO}_2$ ), e com diferentes características físicas e químicas, de modo que tenham sua utilização avaliada para o preenchimento de colunas de eluição de geradores de  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ . Estes já são produzidos e comercializados pelo IPEN, e a inovação possibilitaria aumentar sua atividade, além de geradores de  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  e  $^{82}\text{Sr}/^{82}\text{Rb}$ , que ainda se encontram em fase de desenvolvimento tecnológico no IPEN.

# Reator Multipropósito Brasileiro



 Reator Multipropósito Brasileiro (RMB) é um empreendimento da Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) em fase de projeto, que tem como finalidade principal a produção de radioisótopos para uso na medicina nuclear. Além da produção de radioisótopos, o RMB também tem como funções básicas a produção de fontes radioativas usadas em aplicações na indústria, na agricultura e no meio ambiente; a realização de testes de irradiação de combustíveis nucleares e materiais estruturais utilizados em reatores de potência; bem como a realização de pesquisas científicas com feixes de nêutrons em várias áreas do conhecimento.

O reator nuclear será do tipo piscina aberta, com potência máxima de 30 MW, e terá como referência o reator nuclear OPAL de 20 MW, construído na Austrália e projetado pela empresa argentina INVAP, a qual também participou do projeto básico do reator e dos sistemas do reator.

Os principais objetivos do RMB e das instalações nucleares e radioativas associadas são: (1) produção de radioisótopos e radiofármacos, visando suprir toda a demanda nacional, incluindo o  $^{99}\text{Mo}$ , gerador do  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , que é o radioisótopo mais utilizado na medicina nuclear atualmente e que não é produzido no país; (2) irradiação e teste de combustíveis nucleares e materiais estruturais visando avaliar a integridade estrutural destes, quando submetidos a altas doses de radiação, o que não está disponível no país; (3) desenvolvimento de pesquisas científicas e tecnológicas utilizando feixe de nêutrons.

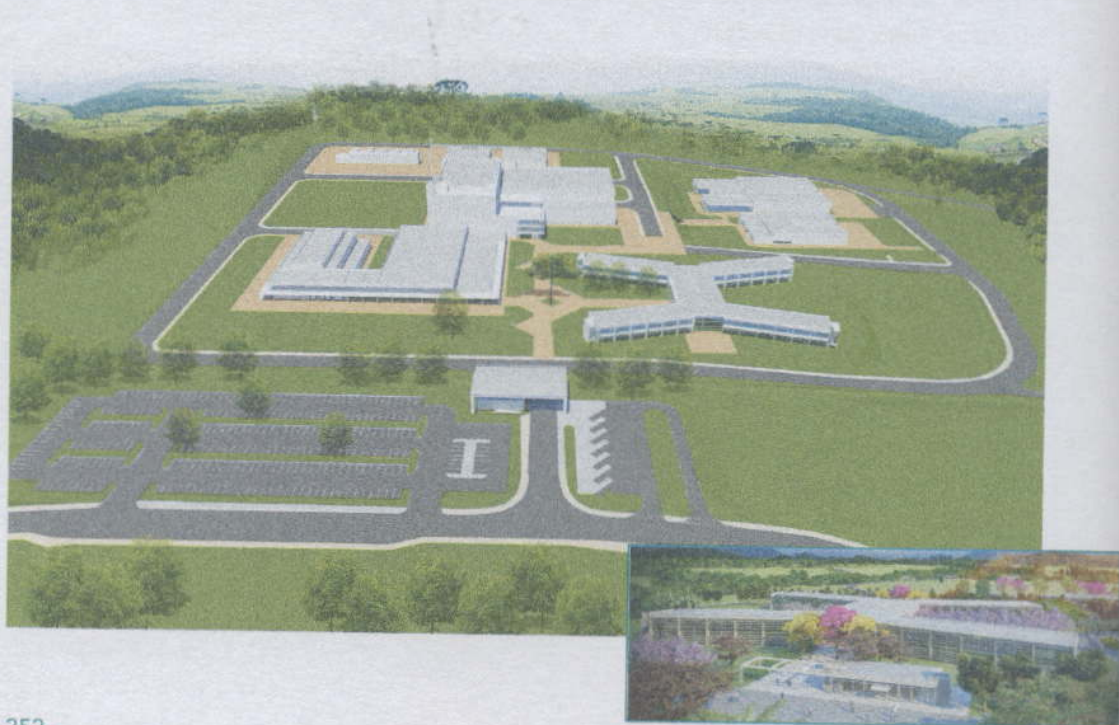
Todas as instalações e infraestrutura associadas ao empreendimento RMB estão localizadas em terreno de aproximadamente 200 hectares, 580 metros acima do nível do mar, no município de Iperó, estado de

São Paulo, distante aproximadamente 125 km do centro da capital. Na Figura 23, é mostrado um esboço da vista panorâmica dos edifícios do projeto RMB.

**23** Vista arquitetônica dos edifícios associados ao reator nuclear do Projeto RMB (maquete eletrônica), a ser construído em Iperó, SP. No detalhe, edifício da área de P&D. Crédito: Acervo IPEN.

Esse terreno é contíguo ao Centro Experimental Aramar (CEA), local onde ocorre parte do Programa de Desenvolvimento de Propulsão Nuclear da Marinha do Brasil, operado pelo Centro Tecnológico da Marinha em São Paulo (CTMSP). Embora esteja em área contígua ao CEA, o empreendimento se constituirá de uma área independente e operada exclusivamente pela CNEN.

O projeto conceitual dos sistemas nucleares e convencionais do RMB e instalações nucleares e radioativas associadas está sendo desenvolvido pelo pessoal técnico dos Institutos de Pesquisas da CNEN, liderados pelo IPEN. O Instituto agrega experiência nacional em projeto nuclear (reator nuclear IPEN/MB-01), operação e reforma de reator de



pesquisa (reator nuclear IEA-R1 de 5 MW), desenvolvimento e fabricação de elementos combustíveis (100% do combustível para operar o reator IEA-R1 é fabricado no IPEN), além de liderança nacional na produção e distribuição de radioisótopos.

O Quadro 4 apresenta um resumo dos radioisótopos e fontes para produção inicial no RMB. É importante salientar que a produção dos radiofármacos e dos geradores de tecnécio continuará a ser realizada nas instalações hoje existentes no IPEN, em São Paulo. Todos os radioisótopos listados no Quadro 4 serão produzidos em posições de irradiação localizadas no tanque refletor, ao lado da estrutura que envolve o núcleo do reator.

O IPEN é a unidade de pesquisa da CNEN responsável pela produção e distribuição de radioisótopos de origem em reatores nucleares e

Quadro 4: Radioisótopos a serem produzidos no RMB

Tipo de radioisótopo	Radioisótopo	Forma de produção
Radioisótopos para radiofármacos injetáveis	Mo-99	Irradiação de U-235
	I-131	Irradiação de U-235
	Cr-51	Irradiação de Cr-50
	SM-153	Irradiação de SM-152
	Lu-177	Irradiação de Lu-176
	Ho-166	Irradiação de Ho-165
	Y-90 (microesferas)	Irradiação de Y-89
	W-188	Irradiação de W-186
	P-32	Irradiação de S-32
Radioisótopos para braquiterapia	I-125	Irradiação de Xe-124
	Irídio-192 – Médico	Irradiação de Ir-191
Radioisótopos para a indústria	Irídio-192 – Industrial	Irradiação de Ir-191
	Co-60 (de baixa atividade)	Irradiação de Co-59
	Se-75	Irradiação de Se-74
Radioisótopos tipo traçadores	Br-82	Irradiação de Br-81
	Hg-203	Irradiação de Hg-202
	I-131	Irradiação de U -235

os radiofármacos que utilizam esses radioisótopos para uso em medicina nuclear. A própria história da medicina nuclear no Brasil é extremamente ligada a essas atividades do IPEN (ver capítulo *Radiofármacos*).

Ao longo dos anos, e com o avanço das técnicas diagnósticas e terapêuticas, novos radioisótopos produzidos em reator nuclear e seus radiofármacos foram incorporados à prática médica. Dentre eles se destaca o gerador de  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ , que fornece o radioisótopo mais utilizado em diagnóstico em medicina nuclear, o  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , que marca facilmente uma série de conjuntos de reativos liofilizados (*kits*). Esses *kits*, marcados com  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , produzidos no IPEN, permitem a visualização e o estudo dinâmico do funcionamento de uma série de órgãos e sistemas no corpo humano. O  $^{131}\text{I}$  se estabeleceu para o diagnóstico e a terapia de problemas relacionados à glândula tireoide. Moléculas marcadas com  $^{131}\text{I}$ , como MIBG-I-131 e hipuran-I-131, permitem o diagnóstico e a terapia de outras doenças. Moléculas marcadas com  $^{51}\text{Cr}$  também foram incorporadas à produção rotineira do IPEN.

Mais recentemente, uma classe de radioisótopos emissores de partículas beta passou a ter extrema importância em aplicações terapêuticas. Hoje em dia o IPEN produz radiofármacos preparados com  $^{153}\text{Sm}$ ,  $^{177}\text{Lu}$  e  $^{90}\text{Y}$  para aplicações terapêuticas.

Outros radioisótopos de interesse futuro para o preparo de radiofármacos produzidos no RMB serão o  $^{166}\text{Ho}$  e o  $^{188}\text{Re}$ , na forma do gerador de  $^{186}\text{W}/^{188}\text{Re}$ . Além deles, as microesferas marcadas com  $^{166}\text{Ho}$ ,  $^{90}\text{Y}$  e  $^{32}\text{P}$  têm uso potencial em medicina nuclear. Hoje o  $^{32}\text{P}$  é distribuído em duas formas químicas diferentes, para aplicações em pesquisas biológicas.

As radiações ionizantes são utilizadas também em diversas terapias, principalmente no tratamento de câncer. Nesse caso, a irradiação das células cancerosas tem o objetivo de destruí-las e impedir sua multiplicação. Uma das formas de aplicação da radiação consiste em colocar pequenas fontes em contato direto com a área do tecido a ser irradiada, técnica denominada braquiterapia. Essas fontes podem ser aplicadas por determinado período de tempo e depois retiradas, como é feito, por exemplo, em tratamentos de câncer de útero, ou ser implantadas


no corpo do paciente, como no tratamento de câncer de próstata. Fios de  $^{192}\text{Ir}$  e sementes de  $^{125}\text{I}$  são processados no IPEN para esse tipo de aplicação.

Destacam-se os seguintes itens relevantes para a definição conceitual do RMB:

1. O  $^{99}\text{Mo}$  e o  $^{131}\text{I}$  são os principais radioisótopos para aplicação na saúde e devem ser a prioridade de irradiação no reator. Eles deverão ser produzidos a partir de alvos irradiados no núcleo do reator, que consistem em placas combustíveis miniatura (miniplacas), de liga de urânio-alumínio ( $\text{UAl}_2$ ), revestidas de alumínio, sendo o urânio enriquecido a 20% em  $^{235}\text{U}$ . Cada alvo possui em torno de 1,4 g de  $^{235}\text{U}$ , sendo estimado um consumo semanal de 16 alvos para a atividade desejada do projeto. Os dispositivos de irradiação no reator e a unidade de processamento serão dimensionados para uma produção semanal mínima de 1 mil Ci de atividade de  $^{99}\text{Mo}$ , calibrados para após 6 dias de decaimento. Levando em conta que o consumo nacional hoje em dia do  $^{99}\text{Mo}$  é de aproximadamente 450 Ci de atividade por semana, essa quantidade dobrará a oferta atual e também poderá ser elevada, se houver necessidade, sem acarretar problemas técnicos ao projeto.
2. Os radioisótopos  $^{99}\text{Mo}$  e  $^{131}\text{I}$  são produtos de fissão do  $^{235}\text{U}$ , sendo necessárias células quentes para o processamento químico dos alvos irradiados e a separação/purificação desses radioisótopos, requerendo também frequência semanal de processamento e operação sem interrupção do reator por períodos de até 4 semanas.
3. O radioisótopo  $^{125}\text{I}$  para braquiterapia não exige alto fluxo de nêutrons, mas requer equipamentos específicos de irradiação e tratamento pós-irradiação, já que é produzido pela irradiação de um gás.
4. A capacidade de produção dos demais radioisótopos para aplicação na saúde será definida conforme demanda existente e futura, não sendo esse um parâmetro limitante do projeto do reator e das instalações associadas.



# Programas de Pós-Graduação

 IPEN possui há quarenta e três anos um programa de Pós-Graduação Acadêmico (*Stricto Sensu*), Tecnologia Nuclear, na grande área Engenharias II, com o aprimoramento científico dos diplomados em vários cursos de graduação, sendo vinculado à Pós-Graduação da Universidade de São Paulo, por meio da Portaria USP n. 905, de 16 de março de 1976.

O Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Nuclear tem por finalidade a formação de pesquisadores em nível de Mestrado e Doutorado nos campos da Tecnologia Nuclear e áreas correlatas (Figura 24). O programa é recomendado pelo Ministério da Educação e Cultura (MEC) por meio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), tendo obtido no decorrer dos últimos anos o conceito 6 nos cursos de Mestrado e Doutorado, o que o classifica como curso de excelência. Conceito atual com vigência no período de 2017 a 2020. A esse programa o Instituto associou seu Programa de Iniciação Científica e Tecnológica (Figura 25).

São três as áreas de concentração abrangidas pelo Programa de Tecnologia Nuclear – Aplicações, Materiais e Reatores –, e todas agregam as pesquisas nas áreas da saúde.

O caráter multidisciplinar do curso o insere em várias linhas de pesquisa com foco na área da saúde, como (a) medicina nuclear; (b) radiologia; (c) radiofarmácia; (d) aplicações de fontes radioativas, em especial para diagnóstico e tratamento de câncer; (e) nanocompósitos para liberação de fármacos; (f) efeitos biológicos da radiação; (g) meio ambiente e saúde; e (h) materiais em saúde.



**24** Bolsistas de Mestrado, Doutorado e Pós-Doutorado recebem orientação de 115 pesquisadores do IPEN, nas mais diversas áreas do conhecimento.  
Crédito:  
E. R. Paiva.

Nas áreas correlatas, o programa dispõe de linhas de pesquisa nas áreas de aplicações de lasers e fotônica nas áreas da saúde, em especial odontologia e dermatologia; síntese de hormônios humanos e suas aplicações na terapia clínica; estudos de imunologia e atenuação de toxinas pela radiação ionizante; estudos bioquímicos e imunológicos de venenos ofídicos; estudos para tratamento de doenças tropicais endêmicas; estudos de proteção radiológica aos trabalhadores das áreas nucleares; redução microbiana em tecidos biológicos; estudos na área da saúde pública, como água potável, esgoto e lodos de estações de tratamento de esgoto, utilizando a radiação ionizante proveniente de aceleradores industriais de elétrons; estudos para desinfestação de flores e alimentos; estudos para síntese de biomoléculas de interesse farmacológico como proteínas, peptídeos e polímeros.



Até o momento, foi defendido, no Programa IPEN/USP, um total de 2.902 teses de Doutorado e dissertações de Mestrado (outubro de 2019). Trata-se de um dos maiores programas da USP em produção e qualidade.

Em 2018, foi aprovado pela CAPES um novo Programa de Pós-Graduação no IPEN, de caráter Profissional (*Stricto Sensu*), como desdobramento do programa existente. Diferentemente do Programa **Tecnologia Nuclear**, o novo programa não está vinculado à USP, portanto tem governança no próprio IPEN. O novo programa chama-se **Tecnologia das Radiações em Ciências da Saúde** e contempla inicialmente apenas o Mestrado Profissional, que compartilhará parte dos docentes do programa anterior. Suas atividades iniciaram-se em agosto de 2019.

A nova proposta de Programa de Mestrado Profissional é uma consequência natural do Programa Acadêmico, em função da crescente

**25** O IPEN possui um Programa de Iniciação Científica e Tecnológica com o objetivo de estimular novos talentos entre estudantes de graduação. Crédito: E. R. Paiva.

demanda por titulação de profissionais médicos e demais profissionais que atuam nas áreas da saúde, com claro perfil e demanda na modalidade Profissional. Visa contribuir com o setor produtivo, incrementando sua competitividade e produtividade. Outro aspecto importante é o fato de o IPEN manter convênio formal de cooperação técnico-científica com diversas instituições da área da saúde no Brasil e no exterior, além de diversos projetos da Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA) envolvendo vários países, principalmente da América Latina.

O desenvolvimento, produção e distribuição de radiofármacos para diagnóstico e terapia na medicina nuclear são as grandes áreas de produção e *expertise* do IPEN, que o faz conhecido em todo o Brasil. São mais de 2 milhões de procedimentos/ano em medicina nuclear no Brasil; os produtos produzidos no IPEN são distribuídos para 430 hospitais e clínicas. Os investimentos na produção de radiofármacos no país são crescentes, e a demanda por pesquisas é ainda maior. Com a regulamentação e a liberação de exploração (em parte) do setor pela iniciativa privada, a necessidade de conhecimento e de novos produtos tornou-se imperativa. As pesquisas na área provam que iniciativas pontuais, como o novo programa, podem trazer benefícios para a área médica.

Devido ao fato de o IPEN ser uma instituição pública, a concretização do curso proposto vai contribuir, ainda, para o equacionamento e a solução de dois grandes gargalos na área da saúde atualmente: (a) o paciente usuário do SUS tem enorme dificuldade de acesso à medicina nuclear; e (b) a produção industrial de radiofármacos ainda é muito tímida quando comparada a outros países com perfil econômico semelhante ao do Brasil. Esses gargalos serão, certamente, considerados nas atividades da nova proposta.

O Instituto atua nas áreas de energia e saúde, majoritariamente. Somam-se a estas, de interesse nesse novo programa, as áreas de biofotônica, física-médica e nanobiomateriais. A pesquisa na área de materiais compreende a síntese, o processamento, a caracterização e os testes de materiais para diversas aplicações, que permeiam todas as áreas citadas.

A aplicação das radiações em saúde oferece imensos benefícios para a população, do diagnóstico ao tratamento de diversas doenças, sendo técnicas e procedimentos de alta complexidade, que envolvem alta tecnologia e custos. Essa área de especialização é multi e interdisciplinar, composta por médicos, tecnólogos, biomédicos, físico-médicos, radiofarmacêuticos, radioquímicos, engenheiros, enfermeiros etc. O treinamento é direcionado a trabalhos com radiofármacos, radionuclídeos, câmaras de cintilação, SPECT/CT, PET/CT, calibradores de dose, segurança radiológica, irradiadores etc.

A formação de profissionais altamente especializados, para a integralidade do cuidado em saúde, representa uma política estratégia nacional e, ao mesmo tempo, um grande desafio para a otimização de recursos, tanto humanos como de infraestrutura e de financiamento, capitaneados por uma Instituição pública, para o objetivo comum do bem-estar da população brasileira. Especificamente, a aplicação de tecnologias das radiações nas ciências da saúde é uma área de conhecimento médico que tem se desenvolvido rápido e colaborado para o diagnóstico por imagem, o monitoramento de pacientes e o tratamento de doenças via radiofármacos de maneira muito significativa. Os avanços na medicina nuclear são indiscutíveis, sobretudo no campo das doenças oncológicas, particularmente nos linfomas, pois hoje, nesses casos, a aplicação da medicina nuclear é uma recomendação da própria Organização Mundial da Saúde (OMS). Além disso, a área tem crescido muito em termos de pesquisa e educação médica. Mesmo sendo uma área recente, claro, tomando como referência o tempo em que outras especialidades são estudadas, a medicina nuclear vem se desenvolvendo de forma exponencial e só tem agregado valores na conduta dos pacientes. O Programa de Mestrado Profissional de **Tecnologias das Radiações em Ciências da Saúde** nasceu dessa reflexão. O IPEN reúne todos os requisitos para um curso profissional em aplicação das tecnologias das radiações (ionizantes ou não ionizantes) em saúde. Possui infraestrutura laboratorial única e compatível, com reatores nucleares de pesquisa, feixes de nêutrons e suas técnicas, biotério, irradiadores,

ciclotrons, parque analítico, centro de biotecnologia, centro de radiofarmácia, além, claro de um centro de tecnologia das radiações. Além disso, já possui expertise de profissionais em radiofarmácia, radioquímica, físico-médica, dosimetria, radioproteção, aplicações de lasers, nanotecnologia e materiais em saúde etc.

Outro aspecto importante é o fato de o IPEN já possuir experiência em sediar um programa na modalidade Profissional, que ofertou com muito sucesso de 1999 a 2013. O Mestrado Profissional em **Lasers em Odontologia** (Odontologia, conceito 5) foi descontinuado, pois, como era associado à Faculdade de Odontologia da USP, esta precisou atender a novas diretrizes da Universidade de São Paulo, encerrando a parceria.

Se alguma Instituição, no Brasil, pode oferecer um curso profissional desse tipo e qualidade, essa Instituição é o IPEN. Esse programa novo e inédito deve promover a produção de conhecimento e inovações tecnológicas, com estratégias fundamentais em saúde, para atender a um setor crescente da área da saúde, dentro da medicina nuclear. Propõe-se, assim, um equilíbrio entre a excelência técnica e a relevância social. De certa forma, hoje em dia já se executam trabalhos no escopo dessa proposta, no atual Programa de Pós-Graduação do IPEN, ofertado em associação com a USP.

Entretanto, diferentemente do Programa Acadêmico do IPEN, **Tecnologia Nuclear**, as disciplinas oferecidas no novo programa são específicas e dedicadas ao perfil do alunado, já inserido no mercado nas áreas da saúde, cuja demanda tem aumentado no IPEN. As disciplinas desse Mestrado Profissional são também, em número e créditos, mais adequadas a um alunado que, em geral, mantém sua atividade profissional. Nesse programa todas as disciplinas já possuem ementa em inglês, como forma de incentivo e preparação dos alunos para a participação em eventos internacionais da área. Ainda, conforme o regimento do programa, será exigida dos alunos uma atividade vinculada à área de concentração do tema da dissertação, que será a apresentação para uma banca examinadora de um seminário pré-defesa de dissertação, visando à manutenção da qualidade do trabalho final.


O Programa de **Tecnologias das Radiações em Ciências da Saúde** tem os seguintes objetivos:

1. Formar recursos humanos especializados (*stricto sensu*) na modalidade profissional, para o avanço da área da saúde.
2. Formar mestres que possam atuar no ensino e serviço da saúde.
3. Suprir demandas do profissional no escopo do curso, no mercado regional e nacional.
4. Promover o caráter multidisciplinar e interdisciplinar da área com diferentes práticas do conhecimento.
5. Definir políticas e estratégias para a produção de conhecimento, registradas por meio de artigos científicos, patentes, desenvolvimento de novos produtos e processos, além da participação em congressos etc.
6. Criar núcleos disseminadores e incentivadores regionais na área.
7. Possibilitar intercâmbios diversos, realimentando o programa com as mais variadas *expertises*.
8. Incentivar a internacionalização do programa, por meio de intercâmbio de professores, alunos e experiências com parceiros internacionais da área, a exemplo do Programa Acadêmico já em vigor no IPEN há quarenta e três anos.
9. Promover o acompanhamento dos egressos do Programa Profissional, com a finalidade de realimentá-lo, aperfeiçoá-lo e acompanhar o alcance social de seus resultados.
10. Ofertar formação nas áreas de desenvolvimento e aplicações de radiações não ionizantes em saúde, considerando a *expertise* institucional também em biofotônica (laser, métodos ópticos de diagnóstico e terapia), biomateriais, nanomateriais e nanotecnologia aplicados às áreas da saúde.
11. Criar no IPEN, de forma inédita no país, um núcleo de estudos de imagem em moléculas, células, tecidos e nanopartículas associadas a processos biológicos. As técnicas propostas permitirão mapear mudanças ultraestruturais e alterações celulares antes e após dado

- tratamento, seja por laser (PDT), nanopartículas, braquiterapia ou radiofármaco. Esse núcleo de estudos de imagem será de fundamental importância para a caracterização e a confecção dos insumos e dispositivos necessários para os diversos tratamentos em questão, como nanopartículas funcionalizadas e microcircuitos optofluídicos utilizados em laboratórios de bolso (*lab-on-chip*) em saúde.
12. Utilizar a técnica SNOM ou NSNOM (*Near-field Scanning Optical Microscopy*), que é o único método óptico com super-resolução que permite investigar o interior de uma molécula com resolução sub-nanométrica. Um SNOM correlaciona a topografia da amostra com uma análise espectral de luz, apresentando suma importância no mapeamento de células vivas.
  13. Atender às exigências de certificação da Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) e da Associação Brasileira de Física Médica (ABFM).
  14. Exercer todas as funções específicas de um profissional dentro de um hospital e/ou clínica e assumir suas responsabilidades legais junto aos órgãos de licenciamento (CNEN) e de fiscalização (ANVISA).
  15. Desenvolver as capacidades analítica e resolutiva para diminuir os riscos associados às práticas médicas.
  16. Implementar um Programa de Garantia da Qualidade nos Serviços Hospitalares ou Instituições de Saúde, com o qual os egressos mantenham vínculo ou acordo de trabalho.
  17. Expandir, futuramente, sua atuação para o nível de Doutorado Profissional.

Esses dois Programas de Pós-Graduação do IPEN, fortemente ligados à área de saúde, conferem embasamento e rigor científicos para qualquer desenvolvimento no Instituto, garantindo qualidade e excelência nos resultados e assegurando o devido e efetivo retorno de qualquer tipo de investimento na casa.

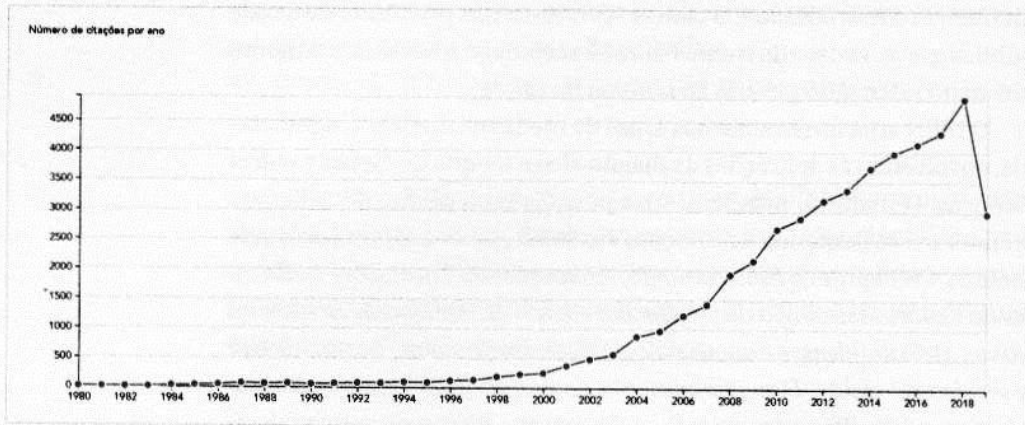
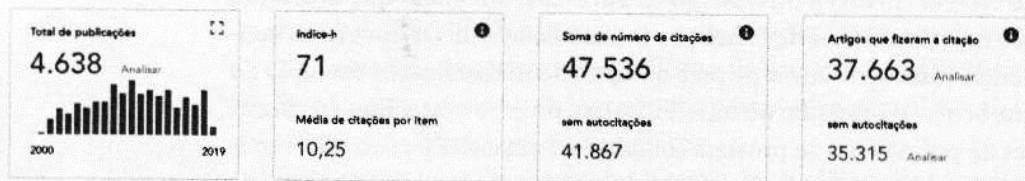
## Conclusões

 câncer é uma doença que se caracteriza pela reprodução desenfreada de células anômalas. Essas células podem se espalhar pelo corpo e resultar em morte. O câncer pode ser causado por fatores internos, como mutações genéticas hereditárias, ou por fatores externos, como o uso de tabaco, álcool, dieta não saudável, entre outros. Com o avanço da tecnologia e da medicina, o diagnóstico realizado precocemente possibilita a descoberta da doença nos estágios iniciais e o aumento da expectativa de vida.<sup>1</sup> As estimativas do Instituto Nacional do Câncer (INCA) para o biênio de 2018-2019 apontam que ocorrerão 600 mil novos casos de câncer no Brasil a cada ano. Os tipos mais incidentes (exceto o câncer de pele do tipo não melanoma), a exemplo do que ocorre no restante do mundo, foram: no sexo masculino, os cânceres de pulmão e o de próstata (mais de 68 mil casos), e, no sexo feminino, os cânceres de mama e de colo do útero.<sup>2-4</sup> Devido à alta taxa de incidência e mortalidade, o câncer tornou-se um problema de saúde pública grave, causando muitas dores à sociedade brasileira e também um custo financeiro pesado ao sistema de saúde.

O IPEN atua fortemente nas áreas de medicina nuclear e radioterapia, envolvendo as aplicações de diagnóstico e terapia de câncer e outras doenças. O Instituto priorizou suas pesquisas na última década para atender a essa demanda de soluções em saúde, junto a toda a sociedade médica. Os capítulos *Biotechnologia*, *Aplicações das radiações ionizantes na saúde*, *Metrologia das radiações em saúde*, *Aplicações de laser na saúde*, *Meio ambiente e nanotecnologia a serviço da saúde*, *Reator nuclear a serviço da saúde*, *Desenvolvimento de materiais em saúde* e *Reator Multipropósito Brasileiro* deste livro descrevem, de maneira sucinta mas

26 Número de citações de trabalhos científicos do IPEN no mundo, por ano.<sup>6</sup>

objetiva, as pesquisas e os desenvolvimentos científicos e tecnológicos realizados no IPEN nos últimos anos, visando especificamente à aplicação na área da saúde, a saber: radiofarmácia, biotecnologia, uso de radiações ionizantes, metrologia das radiações, laser, meio ambiente, nanotecnologia, reator nuclear e materiais. Esse rol de atividades demonstra, claramente, a importância do Instituto para o país, com suas características únicas. O quadro atual é fruto de 63 anos de trabalho sério e comprometido com a melhoria da qualidade de vida da população brasileira. Pode-se dizer, sem sobressaltos, que, após a implantação da tecnologia nuclear pelo Brasil,<sup>5</sup> o IPEN atingiu, na última década, a maturidade científica, como demonstrado na Figura 26, em que se ressaltam as citações a trabalhos científicos do IPEN no mundo. Percebe-se o aumento exponencial da qualidade dos trabalhos a partir de 2000, e esse fato reflete no Índice-h institucional, que chegou a 71 em julho de 2019.<sup>6</sup>



Como consequência dessa atuação exitosa, o IPEN tem aumentado, recentemente, e de maneira significativa, a captação de recursos de agências de fomento (FINEP, FAPESP e outros) e o número (*pro rata*) e qualidade (Figura 26) de suas publicações em periódicos internacionais, além de apresentar uma média anual de 280 publicações em periódicos internacionais (4 na revista *Nature*, 2 na *Scientific Reports*, 1 na *Small*, 1 na *Advanced Materials* etc.), 152 patentes depositadas, 29 cartas-patente concedidas, 25 mil itens no Repositório Digital e Índice-h de 71.

Mais ainda, possui um corpo de docentes permanentes trabalhando em tempo integral, suportado por alunos de todos os níveis, envolvidos em seus programas de pós-graduação, descritos neste capítulo, a saber: (1) um Programa de Pós-Graduação Acadêmico *Stricto Sensu* em **Tecnologia Nuclear**, cujas áreas de concentração são aplicações, materiais e reatores nucleares. Vinculado à USP com conceito 6, de excelência, na CAPES, titulando 1.927 Mestres e 975 Doutores, desde 1976 até outubro de 2019; e (2) um Programa de Pós-Graduação Profissional (Mestrado) *Stricto Sensu* em **Tecnologia das Radiações em Ciências da Saúde**, iniciado em 2019 com a finalidade de atender a uma demanda crescente no IPEN de profissionais atuando em hospitais e clínicas, no uso de radiações ionizantes e não ionizantes.

O Instituto também realiza inovações tecnológicas na área médica, demonstradas pela quantidade de sua produção tecnológica.<sup>5</sup> O atual portfólio do Instituto é composto por *workshops*, prêmios (Petrobras, CAPES e USP de Teses, Abiquim, Abrafati, Atomexpo 2019, dentre outros) e feiras de inovação tecnológica temáticas das áreas nuclear e correlatas.

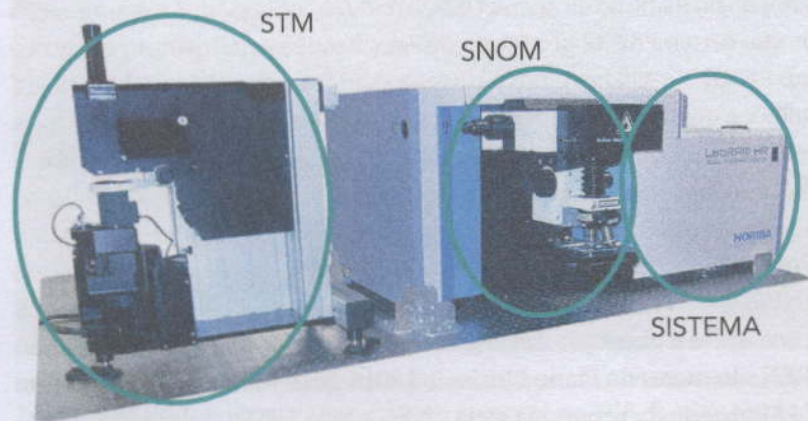
Em 2018, foi aprovado um projeto da chamada FAPESP/SDECTI/SP “Auxílio Especial à Pesquisa - Reserva Técnica para Infraestrutura Institucional de Pesquisa”, com o título “**Capacitação científica, tecnológica e em infraestrutura em radiofármacos e radiações a serviço da saúde**”, com vigência entre 2018-2021, FAPESP processo n. 2017/50332-0. Vale ressaltar o parecer da Assessoria da FAPESP quando da aprovação da proposta:

“O IPEN É O MAIOR CENTRO DESENVOLVEDOR E PRODUTOR DE RADIOFÁRMACOS DO PAÍS. A SOCIEDADE NÃO PODE ABRIR MÃO DESSE PATRIMÔNIO, TÃO AMEAÇADO POR RAZÕES DIVERSAS. A PROPOSTA É INDISCUTIVELMENTE RELEVANTE, URGENTE E, MAIS AINDA, UMA QUESTÃO SERÍSSIMA DE SAÚDE PÚBLICA. PODE-SE DIZER QUE NO ATUAL QUADRO DE CORTES DE RECURSOS, A SOBREVIVÊNCIA DA PRODUÇÃO DE RADIOFÁRMACOS NO BRASIL DEPENDE DO APOIO ORA EM DISCUSSÃO.”

O projeto envolve mais de 100 profissionais do IPEN e tem um valor aproximado de R\$ 16,5 milhões, mais uma bolsa Jovem Pesquisador de R\$ 2 milhões. A proposta veio no momento certo para capacitar o Instituto, com equipamentos analíticos de última geração e bolsas diversas, de modo a dar continuidade aos interesses do Instituto na área de saúde nos próximos cinco anos. Os objetivos estão divididos em dois subprojetos: radiofarmácia e radiações. O subprojeto 1, **Radiofarmácia**, visa à sustentabilidade do ciclo de desenvolvimento de novos (nano-) radiofármacos: da bancada ao estudo clínico, além do desenvolvimento de modelos *in vivo* e *in vitro* para avaliação de radiofármacos produzidos no IPEN. O subprojeto 2, **Radiações**, visa ao desenvolvimento em nanotecnologia e radiações, para uso inovador em medicina; estudos em dosimetria em saúde e início de estudos de uma nova abordagem em protonterapia. Os principais equipamentos desse projeto são um **STM** (*Scanning Tunneling Microscopy*) acoplado a um **SNOM** (*Scanning Near-Field Optical Microscopy*) para uso inovador em medicina, com o objetivo de criar no IPEN, **de forma inédita no país**, um núcleo de estudos de imagem em moléculas, células, tecidos e nanopartículas, associadas a processos biológicos. As técnicas propostas permitirão mapear mudanças ultraestruturais e alterações celulares antes e após dado tratamento, seja por laser, nanopartículas, braquiterapia ou radiofármaco. Esse núcleo de estudos de imagem, de forte caráter multiusuário, será de fundamental importância para a caracterização e a confecção dos insumos e dispositivos necessários para os diversos tratamentos em questão, como nanopartículas funcionalizadas e microcircuitos optofluídicos

utilizados em laboratórios de bolso (*lab-on-chip*) em saúde. SNOM ou NSNOM (*Near-field Scanning Optical Microscopy*) é o único método óptico (portanto não invasivo) com super-resolução que permite observar o interior de uma molécula com resolução subnanométrica. Por se tratar de técnica não invasiva, o SNOM tem grande importância no mapeamento de células vivas. Em suma, o SNOM é uma potente ferramenta para estudar detalhes de amostras biológicas, pois fornece imagens ópticas com resolução espacial nanométrica e informação topográfica simultaneamente. Na Figura 27 é mostrada a fotografia de um equipamento semelhante ao do IPEN, de resolução subnanométrica.

Outro projeto de vulto concedido nessa área é o FINEP n. 01.18.0073.00 da Chamada Pública n. 1/2016, aberta apenas aos Institutos de Pesquisa do Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovação e Comunicações (MCTIC). O título do projeto é **“Implantação de unidade móvel, visando disponibilizar a tecnologia de irradiação de elétrons para o setor produtivo e para a sociedade. Aquisição de equipamentos multiusuários”**. O valor total aproximado do projeto é de R\$ 13,6 milhões, incluindo bolsas de estudo. A primeira parcela do financiamento, entretanto, só foi liberada no fim de 2018, quando se iniciou a aquisição do irradiador de elétrons.



**27** STM-SNOM, com resolução subnanométrica, composto por STM, SNOM e sistema (lasers, espectrofotômetros etc.). Crédito: Horiba.

O projeto conta com a parceria da Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA) para os equipamentos periféricos, no valor de EU 500 mil, e da empresa Truckvan, no desenvolvimento e construção da unidade móvel, no valor de R\$ 1,5 milhões, gerando inovação tecnológica; essa empresa pretende comercializar a ideia em uma etapa futura. A técnica de irradiação de elétrons é útil para descontaminação, desinfestação, purificação etc. em diversas áreas, incluindo a de saúde. Na Figura 28 são mostradas fotografias (a) do modelo da unidade móvel e (b) da unidade móvel já entregue, aguardando a chegada dos equipamentos e a montagem final sistêmica. Esse projeto contempla ainda a aquisição de vários outros equipamentos úteis para o desenvolvimento de pesquisas e a caracterização de materiais na área da saúde.

O projeto de construção de um reator nuclear multipropósito, mencionado no capítulo *Reator Multipropósito Brasileiro*, está sendo conduzido atualmente pela CNEN/IPEN e deverá auxiliar no desenvolvimento da medicina nuclear no Brasil de maneira decisiva. O chamado Reator Multipropósito Brasileiro (RMB) tem entre seus objetivos a produção do  $^{99}\text{Mo}$  (precursor do  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ) usado nos exames nucleares, propiciando assim ao Brasil autonomia na produção de radioisótopos e no fornecimento de insumos para produção de radiofármacos.

No Relatório de Gestão do IPEN (ciclo 2018), a importação com radioisótopos no Instituto alcançou US\$ 20 milhões, necessários à manutenção de sua carteira de 32 produtos comercializados pelo Instituto em outubro de 2019, a 430 hospitais e clínicas, com faturamento anual de R\$ 117 milhões, dos R\$ 121 milhões comercializados em produtos e serviços, cujos recursos retornaram à União. Atualmente, o Centro de Radiofarmácia trabalha na modernização das áreas de produção, com financiamento do Ministério da Saúde, para a implantação das Boas Práticas de Fabricação (BPF) e o registro dos radiofármacos, em atendimento às normas da ANVISA, COVISA e CVS-SP. A implantação do empreendimento do RMB e das BPF e a obtenção dos registros dos radiofármacos produzidos no IPEN são metas do Plano Plurianual 2016-2019 e alvo de planejamento no Ministério da Economia, pela CNEN e pelo MCTIC.



28 (a) Modelo da unidade móvel para irradiação de elétrons multipropósito, confeccionado pela empresa Truckvan; (b) Unidade já pronta, entregue em dezembro de 2018. Crédito: Acervo IPEN.

Em termos de receita, o mercado global de medicina nuclear está avaliado em US\$ 5.351,90 milhões em 2017, e estima-se que atinja US\$ 9.981,30 milhões até 2026, crescendo a uma taxa anual média de 7,2% ao longo do período previsto. No Brasil, a Sociedade Brasileira de Medicina Nuclear (SBMN) avalia que o mercado atual em diagnósticos e terapias é de R\$ 1.000 milhão, com projeção de expansão para R\$ 2.500 milhões e 14.400 empregos diretos e indiretos, em 2032. A medicina nuclear é impulsionada principalmente pelo aumento da incidência dos casos de doenças, entre elas o câncer, em todo o mundo, além do aumento na adoção dos diagnósticos por imagem tipo SPECT (*Single Photon Emission Computed Tomography*) e PET (*Positron Emission Tomography*), e da ampliação da terapia com radioisótopos e radiofármacos.

Destacam-se ainda os Acordos de Cooperação Técnico-Científica firmados com a Fundação Pio XII, mantenedora do Hospital de Amor de Barretos/SP, para avaliar a eficácia, segurança e aprimoramento de radiofármacos ( $^{177}\text{Lu}$ -PSMA) para estudos clínicos necessários ao registro na ANVISA, e com o Hospital A.C. Camargo Cancer Center no desenvolvimento de novas metodologias em diagnóstico oncológico e de radiofármacos, iniciando com o Flúor-18-Colina, produzido nos aceleradores cíclotron (18 MeV e 30 MeV) do IPEN. Além disso, há o Acordo de Cooperação Acadêmica firmado com a Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), voltado ao desenvolvimento de projetos de pesquisa, avaliação e eficácia, segurança e aprimoramento de radiofármacos para uso clínico, treinamento e qualificação de profissionais de medicina nuclear e radiofarmácia.

Em 2019, ao completar 63 anos de existência, o Instituto celebra os “60 Anos de Produção de Radiofármacos no Brasil”, com a produção do primeiro radioisótopo ( $^{131}\text{I}$ ), no reator nuclear de pesquisa IEA-R1, em 1959, utilizado no diagnóstico e na terapia de doenças da tireoide. Para registrar esse marco voltado à expansão da medicina nuclear no país, realizaram-se palestras no Instituto do Legislativo Paulista, da Assembleia Legislativa do Estado de São Paulo, na Arena Santander na

Universidade de São Paulo (USP), além de *workshop* internacional com apoio da Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA) no IPEN.

Na visão de futuro, o principal desafio será manter e melhorar o grau de excelência alcançado pela Instituição, preservando as ações de pesquisa, desenvolvimento, ensino e inovação tecnológica. Além disso, sustentar as atividades relacionadas à produção de radiofármacos (BPF e registros junto à ANVISA) e a construção do RMB de 30 MW, com suas várias linhas de pesquisa e atividades finalísticas, com o aporte de R\$ 13 milhões pela Secretaria de Desenvolvimento Econômico do Estado de São Paulo (terreno de 800 mil m<sup>2</sup>), da Marinha do Brasil (terreno de 1.200.000 m<sup>2</sup>) e dos R\$ 750 milhões recebidos do Ministério da Saúde, além das contribuições financeiras sinalizadas pelo Ministério de Minas e Energia e MCTIC ao empreendimento. A produção de radioisótopos e radiofármacos deverá contar com um novo modelo de gestão, mais ágil e flexível.

O futuro exitoso do IPEN depende fortemente de ações políticas de continuidade. Essas ações consistem em: (a) reposição contínua do quadro de funcionários do Instituto, tanto técnico quanto administrativo (em uma década o Instituto perdeu 2/3 de seus funcionários); (b) garantia da verba para PD&I institucional. Cortes e contingenciamentos recentes prejudicaram o andamento das pesquisas; (c) aumento da verba orçamentária específica para aquisição de equipamentos; (d) maior oferta de bolsas de estudo, em todos os níveis, por parte da CNEN e de outros órgãos de fomento; e (e) redução da burocracia para efetividade e agilidade da inovação tecnológica, ou seja, aplicação direta da Lei da Inovação, conjuntamente com o Novo Marco Legal da C&T&I (Emenda Constitucional n. 85, de 26.02.2015, Lei n. 13, de 11 de janeiro de 2016, e Decreto n. 9.283, de 7 de fevereiro de 2018).

Dentre as principais atividades de P&D e inovação voltadas à saúde no IPEN, evidenciam-se algumas prioritárias, aqui elencadas:

- Desenvolvimento de radiofármaco para diagnóstico de tumores HER2 positivo - HERtarget.

- Obtenção de *kit* PSMA-617 para pronta marcação com  $^{177}\text{Lu}$  e avaliação de sua aplicabilidade no tratamento do câncer de próstata.
- Desenvolvimento de novo radiofármaco para a identificação de áreas de hipóxia em tumores.
- Utilização do nanocompósito de óxido de grafeno no pericárdio bovino empregado em dispositivos cardiovasculares.
- Radioesterilização de pele de tilápia para o tratamento de queimaduras e feridas em humanos.
- Nova técnica de marcação com semente de  $^{125}\text{I}$  como localizador-alvo para tratamento cirúrgico em câncer de mama.
- Participação na rede de criopreservação, reprodução assistida e banco de germoplasma de animais de laboratório.
- Comportamento de sistemas ligante-receptor e da fluidez de membranas sob gravidade alterada.
- Terapia gênica baseada em hormônio de crescimento para tratamento de nanismo e de osteogênese imperfeita.
- Desenvolvimento de cultivos celulares tridimensionais para testes de radiofármacos.
- Produção de soro antielapídico panamericano em colaboração com o Instituto Butantan.
- Expressão e purificação de proteínas recombinantes em bactérias e células de mamíferos, cuja metodologia da renaturação aplica-se na produção de antígenos para preparação de vacinas contra zika, dengue e chikungunya.
- Determinação de elementos em tecidos biológicos para estudo da associação com as doenças humanas.
- Análise de poluição ambiental com biomonitores e correlação com índices de mortalidade.
- Análise de sangue total via equipamento portátil de fluorescência de raios X.
- Correlação de elementos químicos com doenças degenerativas do cérebro.

- Tratamento da obesidade e síndrome metabólica com luz de baixa potência.
- Avaliação multimodal de tratamento de lesões de queimadura de pele por laser de pulsos ultracurtos.
- Qualificação da não perfusão capilar retiniana em diabéticos utilizando angiografia OCT de larga escala.
- Diagnóstico tumoral por espectroscopia de infravermelho.
- Espectrometria de plasma induzida por laser aplicada à odontologia.
- Desenvolvimento de biocompósitos de nitreto de silício bioativos, contendo  $\text{SiO}_2$  e  $\text{SrO}$ , para substituições ósseas.
- Complexação do  $\beta$ -TCP com o DNA de interesse para aplicação em terapia gênica.
- Curativos avançados de hidrogéis com nanopartícula de prata e papaína estruturada para uso em ferimentos leves e de hidrogéis para tratamento de úlceras causadas pela leishmaniose.
- Modificação via radiação de superfícies poliméricas de cateteres para promoção de atividade bactericida.
- Desenvolvimento de cimentos endodônticos para transporte de antibióticos na cavidade dos condutores radiculares dentários.
- Desenvolvimento de um protocolo para testes de controle de qualidade em tomossínteses mamárias.
- Pesquisa e desenvolvimento de compostos de termoplásticos e/ou termofixos equivalentes ao tecido humano.
- Dosimetria de sistema 3D para controle de qualidade em radioterapia.
- Desenvolvimento de um protocolo para testes de controle de qualidade em tomossínteses mamárias.
- Estudos dosimétricos pelo método de Monte Carlo para irradiação de corpo total.
- Desenvolvimento de objetos simuladores utilizando impressora 3D para dosimetria das radiações.
- Investigação não invasiva da nanofarmacocinética e resultados de nanobraquiterapia no tratamento de câncer.

- Avaliação *in vitro* e *in vivo* de nanopartículas funcionalizadas de Au e Pd como radiosensibilizadores, bem como de  $^{198}\text{Au}$  e  $^{103}\text{Pd}$  como nanopartículas radioativas, para tratamento de tumores utilizando radiação ionizante.

Destaca-se ainda a existência da Incubadora de Empresas de Base Tecnológica de São Paulo USP/IPEN, gerenciada pelo CIETEC, no campus do Instituto, com o objetivo de ampliar o índice de sobrevivência e a competitividade das 107 empresas em 2018, das quais 30% atuam em saúde, respondendo pelo faturamento anual próximo de R\$ 33 milhões mais R\$ 13 milhões em recursos provenientes de agências e órgãos de fomento, sendo R\$ 10 milhões em projetos PIPE da FAPESP, para incentivar o crescimento da economia brasileira, o aumento da geração de empregos e da capacidade de exportação do país. Nesse sentido, o Conselho de Direção Estratégica da Incubadora, composto pela Agência USP de Inovação (AUSPIN), e a Direção do IPEN celebraram o novo Convênio e respectivos Acordo de Gestão, Plano e Programa de Trabalho, necessários ao período de 2019 a 2023. Ingressaram na Incubadora USP/IPEN 651 empresas, com faturamento superior a R\$ 600 milhões, resultando no recolhimento de impostos em R\$ 120 milhões, de 1998 a 2018. Nesse período, as empresas receberam perto de 160 milhões em recursos de fomento, dos quais R\$ 65 milhões via projetos PIPE da FAPESP.

Atualmente, diante dos fatos e pesquisas apresentados neste livro, faz-se necessária a atuação mais efetiva do Ministério da Saúde. O elo entre o IPEN e esse órgão intensifica-se dia a dia, vindo mesmo a se confundir com metas daquele Ministério. Esta obra trouxe à tona as especificidades na área de saúde do Instituto, que são únicas no Brasil, devido ao fato de o IPEN possuir instalações nucleares e radioativas singulares no país, além, claro de suas *expertises*.

Finalizando, salienta-se que o fator, hoje, mais importante para o sucesso futuro do IPEN, no curto e no médio prazos, é a realização de concurso público para reposição das perdas de servidores, drástica na última década. Dos 650 funcionários atuais, 320 já possuem tempo para

solicitação de aposentadoria. A reposição é ainda fundamental para a execução de grandes projetos institucionais vigentes, seja de inovação tecnológica com empresas (Shell, Eletronuclear, Petrobras) ou ainda com órgãos de fomento (FINEP, FAPESP), em um total de nove grandes projetos, somando cerca de R\$ 70 milhões para PD&I em compromissos já assumidos.

#### Referências bibliográficas deste capítulo

1. AMERICAN CANCER SOCIETY. Global cancer. *Facts & Figures*. 3. ed. 2015, Atlanta, EUA. p. 64. Disponível em: <https://www.cancer.org>. Acesso em: 27 jul. 2018.
2. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. *Atlas on-line de mortalidade por câncer*. Rio de Janeiro: Inca, 2015. <https://www.inca.gov.br>. Acesso em: 15 jul. 2018.
3. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. *Incidência de câncer no Brasil*. Rio de Janeiro: Inca, 2014. <https://www.inca.gov.br>. Acesso em: 20 set. 2018.
4. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. *Atlas on-line de mortalidade por câncer*. Rio de Janeiro: Inca, 2018. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/14C620F2C5D1>. Acesso em: 10 ago. 2018.
5. LINARDI, M. *O IPEN e a inovação tecnológica: passado, presente e futuro*. São Paulo: SENAI, 2016.
6. Web of Science. Disponível em: [www.webofknowledge.com](http://www.webofknowledge.com). Acesso em: ago. 2019.

IVRARIA: Desação  
PREÇO: \_\_\_\_\_  
DATA RECEB.: 12/2019  
INDICAÇÃO: Autôn  
SERVA: \_\_\_\_\_



O Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN é uma instituição de pesquisa, desenvolvimento, ensino, produção e serviços que abrange as áreas nuclear, energética e correlatas. Desempenha suas atividades produzindo conhecimentos científicos, desenvolvendo tecnologia, gerando produtos e serviços e formando profissionais habilitados para atuar nas áreas de aplicação da energia nuclear.

A reconhecida e destacada atuação do IPEN, da pesquisa à prestação de serviços para a sociedade, tem importância econômica, social e estratégica para a cidade, o Estado de São Paulo e para o Brasil e vai ao encontro de sua missão: “Nosso compromisso é com a melhoria da qualidade de vida da população brasileira, produzindo conhecimentos científicos, desenvolvendo tecnologias, gerando produtos e serviços e formando recursos humanos nas áreas nuclear e correlatas”.



ISBN 978-85-534-0173-4

