



Encapsulação de hormônio em lipossomos pode
**MELHORAR TRATAMENTO
DA CAQUEXIA**

Hormone encapsulation in liposomes can
**IMPROVE THE TREATMENT
OF CACHEXIA**

Por/By: Guilherme Profeta
Fotos/Photos: Paulo Ribeiro (arquivo)

“A carne é consumida e se torna água.”

Foi assim que, em 400 a.C., Hipócrates — conhecido como o pai da Medicina — descreveu a caquexia, uma síndrome multifatorial que causa perda de peso e inflamação sistêmica. Por acometer portadores de doenças crônicas graves (como câncer, insuficiência cardíaca, artrite reumatoide, doença pulmonar obstrutiva, doenças renais e cirrose hepática, além de outras condições que comprometem o funcionamento de todo o organismo), a caquexia costuma ser subestimada, como o mero resultado de outras doenças. Mas não deveria, conforme defende a pesquisadora Cecilia Torqueti de Barros, que estudou a questão em sua pesquisa de mestrado, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba (Uniso).

“A caquexia atinge um número significativo de pacientes”, ela diz. “São cerca de 9 milhões de pessoas, segundo dados de 2014, e esses números nem mesmo incluem os casos que ocorrem em países da América do Sul e da África, onde os registros são escassos ou subnotificados. Esse nível de incidência deveria aumentar a conscientização sobre a caquexia, estimulando a comunidade a compreender sua magnitude e complexidade. Um ponto em particular que me preocupa é que, além das doenças crônicas associadas à caquexia, temos de abordar os problemas relacionados às doenças infecciosas (como a AIDS, a tuberculose e a malária), que afetam muitos pacientes que são ainda mais negligenciados quando comparados aos pacientes com a caquexia associada ao câncer, por exemplo.”

COMPREENDENDO A DOENÇA E O TRATAMENTO

A caquexia é causada pelo aumento da atividade do sistema nervoso simpático devido à presença de uma lesão em algum ponto do organismo, ou de danos causados por processos inflamatórios silenciosos, que se mantêm por longos períodos. As inflamações têm como objetivo estimular as células de defesa do corpo humano, porém, em casos de inflamação crônica (como nas doenças citadas anteriormente), essa atividade protetora natural não volta aos índices regulares, causando a caquexia,

“Flesh is consumed and turns to water.”

This is how, in 400 B.C., Hippocrates—known as the father of Medicine—described cachexia, a multifactorial syndrome that causes weight loss and systemic inflammation. Affecting individuals with serious chronic diseases (such as cancer, heart failure, rheumatoid arthritis, chronic obstructive pulmonary disease, kidney diseases, and liver cirrhosis, among other conditions that impair the body's overall functioning), cachexia is often underestimated as merely a consequence of other illnesses. However, it should not be, according to researcher Cecilia Torqueti de Barros, who studied the issue throughout her Master's research at Uniso's graduate program in Pharmaceutical Sciences.

“Cachexia affects a significant number of patients,” she says. “Around 9 million people, according to 2014 data, and these numbers do not even include cases occurring in South American and African countries, where records are scarce or underreported. This level of incidence should raise awareness about cachexia, encouraging the community to understand its magnitude and complexity. One particular point that concerns me is that, in addition to the chronic diseases associated with cachexia, we must also address problems related to infectious diseases (such as AIDS, tuberculosis, and malaria), which affect many patients who are even more neglected compared to patients with cancer-associated cachexia, for example.”

UNDERSTANDING THE DISEASE AND ITS TREATMENT

Cachexia is caused by increased activity of the sympathetic nervous system due to the presence of a lesion in some part of the body or by damage caused by silent inflammatory processes that persist over long periods. Inflammation serves the function of stimulating the body's defense cells; however, in cases of chronic inflammation (as in the diseases mentioned earlier), this natural protective activity does not return to normal levels, resulting in cachexia, which is manifested by the loss of



Em sua pesquisa, Cecilia T. de Barros buscou desenvolver uma forma de fazer com que a grelina chegassem ao cérebro através da mucosa intranasal

In her research, Cecilia T. de Barros sought to develop a method to deliver ghrelin to the brain through the intranasal mucosa

que é manifestada pela perda de massa corporal muscular e adiposa (as massas “magra” e “gorda”). Esse estímulo progressivo para a produção das células de defesa aumenta a atividade do sistema nervoso simpático, reduzindo no organismo os níveis de grelina, que é um hormônio produzido na mucosa estomacal.

Atualmente, a caquexia pode ser tratada por meio da administração suplementar de grelina, apesar de nenhuma intervenção medicamentosa estudada até o momento ser completamente efetiva e reverter completamente as consequências da síndrome caquética. A administração da grelina em estudos recentes se dá por meio de injeções, mas, dado o fato de essa ser uma condição crônica, que exige tratamento recorrente, a busca por vias de administração não invasivas — mais

both muscle and adipose body mass (the “lean” and “fat” masses). This progressive stimulation of the production of defense cells increases sympathetic nervous system activity, lowering levels of ghrelin in the body, which is a hormone produced in the mucosal lining of the stomach.

Nowadays, cachexia can be treated through the supplemental administration of ghrelin, although no pharmacological intervention studied so far has proven fully effective in completely reversing the consequences of the cachectic syndrome. In recent studies, ghrelin has been administered via injections; however, given that this is a chronic condition requiring recurrent treatment, the search for non-invasive administration routes—more comfortable for

confortáveis para o paciente — pode aumentar a adesão ao tratamento e, consequentemente, as suas chances de sucesso. O que Barros estudou em sua pesquisa foi uma forma de fazer com que a grelina chegue ao cérebro através da mucosa intranasal. Esse sistema tecnológico de administração de medicamentos, denominado *naso-cerebral*, é uma das linhas de pesquisa desenvolvidas no Laboratório de Biomateriais e Nanotecnologia da Uniso (LaBNUS).

“Algumas das ações da grelina dependem da acessibilidade do hormônio nos seus alvos cerebrais. O grande desafio é o fato de o cérebro ser isolado e protegido do ambiente externo por várias barreiras fisiológicas”, explica a pesquisadora. Essa mesma proteção, que se dá por meio de uma membrana seletiva denominada barreira hematoencefálica, que impede a passagem de substâncias nocivas do sangue para o cérebro, também dificulta que fármacos cheguem até o local onde devem agir, dificultando o tratamento de doenças neurodegenerativas.

“Para a administração contínua de medicamentos contendo macromoléculas como a grelina, é preciso incluir essas moléculas em formulações específicas, estruturalmente semelhantes às células, com a finalidade de aumentar a absorção sem causar danos às mucosas nasal e cerebral, e, ao mesmo tempo, proteger a grelina do metabolismo enzimático, evitando assim a sua degradação e melhorando o efeito terapêutico, com doses menores do que aquelas que seriam administradas por injeção”, completa o orientador da pesquisa, o professor doutor Marco Vinícius Chaud.

A solução proposta por Barros é a formulação de **LIPOSSOMOS** elásticos, uma estratégia biotecnológica que resolve todos esses problemas e também reduz os custos do tratamento.

PRODUZINDO LIPOSSOMOS ESPECÍFICOS

Lipossomos já são amplamente utilizados pela indústria farmacêutica como sistemas de liberação de fármacos. No caso da administração da grelina encapsulada, contudo, a dificuldade é vencer as barreiras fisiológicas que protegem

the patient—may increase treatment adherence and, consequently, its chances of success. In her research, Barros studied a method for delivering ghrelin to the brain through the intranasal lining. This technological drug delivery system, called *naso-cerebral* (or *nose-to-brain*), is one of the lines of research being developed at Uniso’s Laboratory of Biomaterials and Nanotechnology (LaBNUS, in the Portuguese acronym).

“Some of ghrelin’s actions depend on the hormone’s accessibility to its cerebral targets. The major challenge lies in the fact that the brain is isolated and protected from the external environment by several physiological barriers,” the researcher explains. This same protection, provided by a selective membrane called the blood-brain barrier, which prevents harmful substances in the blood from entering the brain, also makes it difficult for drugs to reach their intended site of action, complicating the treatment of neurodegenerative diseases.

“For the continuous administration of drugs containing macromolecules such as ghrelin, it is necessary to incorporate these molecules into specific formulations, structurally similar to cells, with the purpose of enhancing absorption without causing damage to the nasal or cerebral mucosal linings, while simultaneously protecting ghrelin from enzymatic metabolism. This prevents its degradation and improves the therapeutic effect, using doses lower than those that would be required if administered by injection,” adds the research advisor, professor Marco Vinícius Chaud.

The solution proposed by Barros is the formulation of elastic **LIPOSOMES**, a biotechnological strategy that addresses all of these issues and also reduces treatment costs.

PRODUCING SPECIFIC LIPOSOMES

Liposomes are already widely used by the pharmaceutical industry as drug delivery systems. In the case of administering encapsulated ghrelin, however, the challenge is to overcome the physiological barriers that protect the brain. “The *nose-to-brain* route imposes several limitations.

o cérebro. “A via *naso-cerebral* impõe várias limitações. Nessa via, a capacidade de permeação está associada ao tamanho dos lipossomos: apenas estruturas com dimensões menores do que 400 nanômetros poderão ser transferidas até o cérebro. Outra limitação é que, na mucosa nasal, o muco é renovado a cada período de 15 a 20 minutos, portanto, se a aderência do produto for fraca, o ingrediente farmacêutico só permanecerá ativo, de fato, durante um período de 10 a 15 minutos”, diz Barros.

Ou seja, para funcionar para a administração intranasal, esses lipossomos nos quais a grelina será introduzida precisam apresentar algumas características específicas, por isso é importante identificar e selecionar formulações adequadas, que atendam a essas exigências. Assim, Barros analisou o tamanho dos lipossomos e como esse tamanho está distribuído, além do potencial zeta (a medida dos níveis de atração e repulsão entre as partículas, que está diretamente relacionada à estabilidade de uma formulação e, consequentemente, à sua durabilidade) e a eficiência da encapsulação da grelina nos lipossomos.

PARA SABER MAIS: O QUE SÃO LIPOSSOMOS?

A pesquisadora explica que lipossomos são estruturas microscópicas em formato de bolhas. “A bolha é formada por uma camada dupla de lipídios, que possuem as características químicas necessárias para se auto-organizar. Dentro dessa bolha, como numa cápsula, está uma fase aquosa. Por possuírem características muito parecidas com a membrana celular, lipossomos são compatíveis com o organismo, o que faz com que sejam utilizados como ‘transportadores’ de fármacos para melhorar a permeação de medicamentos. Também são importantes para fornecer proteção contra possíveis degradações do fármaco no organismo.”

TO KNOW BETTER: WHAT ARE LIPOSOMES?

The researcher explains that liposomes are microscopic, bubble-shaped structures. “The bubble is formed by a double layer of lipids, which have the chemical properties necessary to self-organize. Inside this bubble, like in a capsule, there is an aqueous phase. Because their characteristics closely resemble those of the cell membrane, liposomes are compatible with the body, which allows them to be used as drug ‘carriers’ to enhance the permeation of medications. They are also important for protecting against potential drug degradation within the body.”

In this pathway, permeation capacity is associated with liposome size: only structures smaller than 400 nanometers can be transported to the brain. Another limitation is that in the nasal mucosal lining, mucus is renewed every 15 to 20 minutes; therefore, if the product’s adhesion is weak, the active pharmaceutical ingredient will effectively remain active for only 10 to 15 minutes,” Barros explains.

In other words, for intranasal administration to be effective, the liposomes in which ghrelin will be incorporated need to possess specific characteristics. Therefore, it is important to identify and select suitable formulations that meet these requirements. Accordingly, Barros analyzed the liposome size and its distribution, as well as the zeta potential (a measure of the levels of attraction and repulsion between particles, which is directly related to the stability of a formulation and, consequently, its shelf life), and the efficiency of ghrelin encapsulation within the liposomes.



Medicamentos contendo macromoléculas como a grelina devem chegar ao cérebro íntegras e sem causar danos às mucosas — no caso, à mucosa intranasal

Drugs containing macromolecules such as ghrelin must reach the brain intact and without causing damage to the mucosa—in this case, the intranasal mucosal lining

Uma vez selecionada a formulação ideal, com lipossomos de tamanho entre 70 e 150 nanômetros e revestidos de quitosana (um polissacarídeo que confere aderência dos lipossomos à mucosa nasal), o próximo passo foi testar as características dos lipossomos num experimento *ex vivo* — ou seja, um experimento que envolve um tecido orgânico, mas que é realizado fora de um organismo vivo. Nesse caso, para avaliar a permeação dos lipossomos pela mucosa nasal, o experimento se deu com um focinho de porco, cuja mucosa é morfológicamente semelhante à humana.

Tratamentos mais confortáveis aos pacientes elevam adesão e chance de sucesso

“A grelina, quando transportada pelos lipossomos, apresentou um perfil de permeação mais vantajoso do que o da grelina livre, não encapsulada. Os lipossomos também forneceram proteção eficaz contra a degradação enzimática. Além disso, a formulação com revestimento de quitosana apresentou maior e mais rápida taxa de permeação do que as outras formulações sem o revestimento”, conclui a pesquisadora.

Isso significa que futuras pesquisas voltadas ao desenvolvimento de fármacos para o tratamento da caquexia poderão apostar nessas soluções, dando prosseguimento a outros testes, inclusive *in vivo* e com seres humanos, que são etapas essenciais para que, um dia, um medicamento seguro e eficaz seja disponibilizado no mercado, provendo mais conforto a pacientes que precisam enfrentar a caquexia.

Com base na dissertação “Desenvolvimento e avaliação de lipossomos como carreadores de grelina para liberação naso-cerebral”, do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba (Uniso), com orientação do professor doutor Marco Vinícius Chaud e aprovada em 28 de fevereiro de 2020.

Once the ideal formulation was selected, with liposomes ranging from 70 to 150 nanometers in size and coated with chitosan (a polysaccharide that enhances liposome adhesion to the nasal mucosal lining), the next step was to test the liposome characteristics in an *ex vivo* experiment—that is, an experiment involving organic tissue conducted outside of a living organism. In this case, to assess liposome permeation through the nasal lining, the experiment was performed using a pig snout, whose lining is morphologically similar to that of humans.

More comfortable treatments increase patient adherence and chances of success

“Ghrelin, when delivered via liposomes, exhibited a more favorable permeation profile than free, non-encapsulated ghrelin. The liposomes also provided effective protection against enzymatic degradation. Furthermore, the chitosan-coated formulation demonstrated a higher and faster permeation rate compared to other formulations without the coating,” the researcher concludes.

This means that future research focused on the development of drugs for the treatment of cachexia can build on these solutions, proceeding with further testing, including *in vivo* studies and trials with human subjects, which are essential steps for one day making a safe and effective medication available on the market, providing greater comfort to patients who must face cachexia.

Acesse o texto completo da pesquisa em português:
Use the link to access the full text of the original research (in Portuguese)

