APLICAÇÃO DA NANOTECNOLOGIA NA PECUÁRIA E SUAS IMPLICAÇÕES NO BEM-ESTAR ANIMAL

Gern, J. C. ; Pires, M. F. A. ; Guimarães, A. S. ; Carvalho, W. A. ; Ribeiro, J. B. ; Souza, G. N.;
Brandao, H. M.*

*Embrapa Gado de Leite, R. Eugênio do Nascimento, 610. Juiz de Fora-MG Brasil.

1Embrapa Gado de Leite; * humberto.brandao@embrapa.br

O conceito de bem-estar animal é influenciado por diferentes visões e culturas. Consequentemente há um grande debate na comunidade científica a respeito do conceito de bem-estar animal e, principalmente, de sua aplicabilidade aos contextos científico e produtivo (Hötzel e Machado Filho, 2004).

Para Broom & Molento (2004) o bem-estar animal é uma ciência indispensável principalmente aos profissionais que trabalham com foco na interação humanos e animais, e deve estar relacionado com conceitos como: necessidades, liberdade, felicidade, adaptação, controle, capacidade de previsão, sentimentos, sofrimento, dor, ansiedade, medo, tédio, estresse e saúde.

A interseção entre nanotecnologia e bem-estar animal pode ocorrer nos mais diversos contextos, mas quando considera-se sofrimento, dor, ansiedade, medo, estresse e saúde, talvez isso fique mais evidente.

A Organização Internacional de Normatização (ISO), por intermédio do Comitê Técnico 229, define nanotecnologia como sendo a capacidade de compreensão e controle da matéria e dos processos em nanoescala, mas não exclusivamente, que resultem em materiais com pelo menos uma das dimensões abaixo de 100 nm, no qual o início de fenômenos dependentes do tamanho permitem novas aplicações ao material. Todavia, há que se considerar que muitos desses fenômenos já aparecem abaixo de 1000, o que remete a muitos autores e agentes regulamentadores, especificamente da área farmacêutica, a considerar nanotecnologia como sendo a capacidade de compreensão e controle da matéria e dos processos em nanoescala em escala inferior à 1000nm. Nesta condição, os fenômenos físicos facilmente visualizados na escala métrica como a gravidade, o atrito, a inércia e outros têm sua importância de ação sobre as partículas que foram diminuídas à nanoescala e, com isso, outras forças físicas, até então diminutas, como é o caso da força eletrostática, de van der Waals, das repulsões estéricas, do movimento browniano e outras passam a imperar. Assim, a partícula pode apresentar suas características aumentadas, modificadas, ou mesmo novas características quando comparados a sua forma convencional. Como exemplo, pode-se citar as nanopartículas de ouro que quando possuem diâmetro médio inferior a 10 nm apresentam coloração vermelha e ao ter seu diâmetro aumentado para dimensões que oscilem entre 10 e 99 nm assumem uma coloração violácea em meio aquoso.

Levando-se em consideração apenas a redução de tamanho da partícula, via de regra, o material tem sua reatividade aumentada em função da elevação da área da de superfície/unidade de peso e, em

muitos casos, isso pode levar a um acréscimo na biodisponibilidade de uma matéria-prima. Essa tem sido a estratégia mais empregada para otimizar o uso de micronutrientes para a alimentação animal. Por outro lado, o acréscimo na área superficial também pode favorecer que esse micronutriente seja mais reativo e, com isso, apresente seus limiares de toxicidade modificados ou mesmo que interaja com outros componentes da dieta, modificando assim sua absorção.

A suplementação de selênio em dietas de aves corte é uma prática rotineira, todavia esse mineral na forma de selenito de sódio possui uma faixa de toxicidade/efeito nutricional muito estreita. O uso de selênio elemental na forma manométrica (nanoSe; *i.e*. 80nm) foi avaliado por Hu e colaboradores (2012) como uma alternativa para contornar as limitações de uso do selenito de sódio. Dentre os achados importantes reportados pelos autores destaca-se que o nanoSe apresentou faixa de segurança de uso mais ampla que o selenito de sódio, o que lhe confere maior segurança de uso. Por sua vez, a simples inclusão de 3000 ppb de cromo na forma manométrica, quando comparada à dieta controle, também promoveu melhorias significativas na taxa de conversão alimentar de frangos em crescimento, a qual foi acompanhada de melhorias no sistema imune, evidenciadas pelo aumento do número de linfócitos e do título de anticorpo contra Newcastle (Sirirat et al., 2012).

Apesar da simples redução de tamanho já poder promover ganhos como os exemplos supracitados, o maior impacto sobre o bem-estar animal pode ocorrer via uso de sistemas nanoestruturados para a liberação controlada de princípios ativos em geral. Via de regra, o processo de nanoestruturação de um medicamento permite que o sistema assuma características próprias, normalmente diferentes das características originais. Como exemplos podemos citar a incorporação de medicamentos hidrofóbicos em formulações farmacêuticas aquosas. Normalmente fármacos hidrofóbicos são veiculados em formulações farmacêuticas oleosas, o que por vezes provoca grande dor após aplicação medicamentosa.

Uma vez dentro ou adsorvido à superfície da nanopartícula, o fármaco pode ter sua biodisponibilidade reduzida. Todavia, após sua aplicação essa nanopartícula tende a liberar gradualmente o fármaco, seja por processo de difusão, degradação e/ou ruptura da nanopartícula. As consequências são a manutenção das concentrações farmacológicas dentro do limiar terapêutico e uma redução da toxicidade. Na prática, o que se consegue são formulações farmacêuticas com efeitos colaterais menores e que possuem intervalos maiores entre as aplicações.

Outra vantagem é o direcionamento das nanopartículas para compartimentos alvos. De uma forma geral, naturalmente as nanopartículas são direcionadas para regiões de processos inflamatórios ou patologias que promovam o afrouxamento das junções interendoteliais, como por exemplo algumas manifestações cancerígenas. Com o relaxamento das células interendoteliais as nanopartículas passam do compartimento vascular para o intersticial. No interstício o tecido conjuntivo, de forma similar a

um sistema cromatográfico, as partículas de maior tamanho transitam em velocidade mais lenta na direção do sistema linfático. Durante esse trajeto, o fármaco vai gradativamente sendo liberado. Com isso o fármaco tende a apresentar maior concentração nessa região. Outra forma de direcionamento é o direcionamento ativo, no qual a nanopartícula pode ser revestida com uma molécula que favoreça sua captação por um tipo celular específico (*e.g.* ácido fólico, anticorpos, glicose e outros). Quando se adota essas estratégias consegue-se concentrações farmacológicas mais elevadas em determinados compartimentos biológicos. Com isso espera-se resultados terapêuticos melhores e menores efeitos adversos. Do ponto de vista prático, o que se consegue é a redução de efeitos adversos; aumento de sobrevida no tratamento de doenças terminais; menor necessidade de manipulação do animal e geração de estresse; e até o desenvolvimento de vias alternativas de aplicação de medicamentos.

Exemplificando tais estratégias farmacológicas, Farokhzad e colaboradores (2006) encapsularam o docetaxel em nanopartículas de PLGA peguilhadas e essas nanopartícula foram revestidas por aptâmeros. Aptâmeros são pequenas sequências de nucleotídeos que apresentam altíssima especificidade para um ligante, e nesse experimento foi utilizado como agente promotor de direcionamento ativo. O efeito terapêutico do fármaco livre, nanoencasulado simples e nanoencapsulado com direcionador ativo foram avaliados em modelos *in vivo* para o estudo de câncer de próstata. Os ganhos terapêuticos de regressão tumoral e sobrevida foram significativamente maiores para o tratamento que recebeu o fármaco encapsulado cujas nanopartículas foram revestidas com os aptâmeros, seguido do tratamento cujo fármaco foi encapsulado na nanopartícula simples e do fármaco livre. Importante destacar que cinco dos sete camundongos tratados com nanopartículas revestidas de aptâmeros apresentaram a completa regressão do tumor.

Outro exemplo, foi o experimento realizado pela equipe brasileira (Rocha et al., 2012) que nanoencapsulou a ftalocianina em lipossomas para sua aplicação contra células derivadas de câncer de mama de cadelas. A ftalocianina é um composto fotoativo utilizado em terapia fotodinâmica contra o câncer. Quando comparadas a atividade citotóxica da ftalocianina livre e nanoencapsulada durante o processo de terapia fotodinâmica *in vitro*, a formulação nanoencapsulada apresentou atividade altamente promissora para o tratamento de câncer, enquanto que a forma livre não se mostrou efetiva.

O nanoencapsulamento de antígenos vacinais para melhorar sua apresentação ao sistema imune também é amplamente descrito na literatura. Annalai e colaboradores (2013) nanoencapsularam a proteína externa de membrana de *Campylobacter jejuni* em nanopartículas de PLGA para tentar reduzir o número dessas bactérias no ceco e cloaca de aves, de modo a prevenir a contaminação de carcaças e ovos. Quando administrada pela pelas vias subcutânea e oral, as formulações estimularam a produção de detecção IgY e IgA fecal por ambas a vias de administração. Todavia, os títulos protetores de IgY e IgA só foi conseguido pela via SC. O mesmo polímero (PLGA) foi utilizado para

encapsular o vírus inativado de Newcastle (Sanganagouda et al., 2014). Os autores detectaram uma resposta humoral protetiva e duradoura com o uso desse polímero.

Todavia, apesar de bem descritas na literatura, a disponibilidade de formulações faramacêuticas comerciais contendo nanotecnologia ainda são raras no mercado veterinário. No entanto sinalizam crescimento, seja pelo lançamento recente de novos produtos seja por demanda de P&D. As formulações mais conhecidas disponíveis no mercado contêm quimioterápicos e são produzidos pela empresa farmacêutica Osmania**,** Paccal® Vet , Doxophos® Vet , Carbomexx® Vet e Docecal® Vet, que contêm paclitaxel, carboplatina e docetaxel, para alinha de biológicos o adjuvante vacinal da empresa francesa Seppic, o Montanide™ IMS 1313 N VG PR entrou no mercado há pouco.

Referências

ANNAMALAI et al. Evaluation of nanoparticle-encapsulated outer membrane proteins for the control of *Campylobacter jejuni* colonization in chickens. Poultry Science, v. 92, p. 2201–2211, 2013.

BROOM, D.M.; MOLENTO, C.F.M. Bem-estar animal: conceito e questões relacionadas - Revisão. **Archives of Veterinary Science** v.9, n.2, p.1-11, 2004.

FAROKHZAD, O. C. et al. Targeted nanoparticle-aptamer bioconjugates for cancer chemotherapyin vivo**. PNAS**, v. 103, n. 16, p. 6315-6320, 2006.

HÖTZEL, M. J.; MACHADO FILHO, L. C. P. **Bem-estar animal na agricultura do século XXI.** Revista de Etologia, v. 6, n. 1, p. 3-15, 2004.

HU et al. Comparative effects of nano elemental selenium and sodium selenite on selenium retention in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 177, p. 204-210, 2012.

SANGANAGOUDA et al. Humoral immune response induced by plga micro particle coupled newcastle disease virus vaccine in chickens. Poultry Science Journal, v. 2, n. 1, p. 15-24, 2014.

SIRIRAT et al. Effects different levels of nanoparticles chromium picolinate supplementation on growth performance, mineral retention, and immune responses in broiler chickens. **Journal of Agricultural Science**, v. 4, n. 12, p. 48-58, 2012.

ROCH, M. S. et al. Aluminum-chloride-phthalocyanine encapsulated in liposomes: activity against naturally occurring dog breast cancer cells**. Journal of Biomedical Nanotechnology,** v. 8, n. 2, p.251-257, 2012.