USO DE NANOPARTÍCULAS PARA O TRATAMENTO DE PLACAS DE ATEROMA – Uma revisão integrativa

USE OF NANOPARTICLES FOR THE TREATMENT OF ATHEROMA PLAQUES – An integrative review

1.Ana Bárbara Nunes
1.Gabriela Cuffari Lomovtov
1.Orientadora: Patrícia Lius Melo Alves
Afiliação: 1. Acadêmicas do curso de Biomedicina da Universidade de Sorocaba
2.Professora assistente da Universidade de Sorocaba

Resumo:

Este trabalho apresenta uma revisão integrativa da literatura sobre o uso de nanopartículas no tratamento de placas de ateroma, com foco na aterosclerose, uma condição inflamatória crônica que afeta as artérias e é uma das principais causas de morbidade e mortalidade global. A pesquisa foi realizada entre março e agosto de 2024, utilizando bancos de dados públicos e descritores como "Nanoparticles", "Atheroma plaques", "Atherosclerosis" e "High-Density Lipoprotein". O objetivo principal foi investigar a viabilidade do tratamento da aterosclerose por meio da nanotecnologia. A análise incluiu a seleção de artigos publicados nos últimos dez anos, priorizando aqueles que abordavam diretamente a relação entre nanopartículas e placas de ateroma, excluindo publicações não revisadas por pares e com metodologias inadequadas. Os resultados indicam que as nanopartículas, especialmente as funcionalizadas, apresentam potencial promissor para o tratamento da aterosclerose, com estudos demonstrando eficácia e segurança em modelos experimentais. No entanto, as variações metodológicas entre os estudos limitam a comparação direta dos tratamentos, evidenciando a necessidade de mais pesquisas para padronizar abordagens e avaliar os efeitos a longo prazo. Este projeto contribui para a compreensão das intervenções inovadoras no tratamento da aterosclerose, ressaltando a importância da nanotecnologia como uma estratégia terapêutica emergente e eficaz, com implicações significativas para a saúde pública e o desenvolvimento de novas opções de tratamento.

Palavras-chave: Nanopartículas; Aterosclerose; Placas de Ateroma;

Abstract:

This work presents an integrative review of the literature on the use of nanoparticles for the treatment of atheroma plaques, focusing on atherosclerosis, a chronic inflammatory condition that affects the arteries and is one of the leading causes of morbidity and

mortality worldwide. The research was conducted between March and August 2024, utilizing public databases and descriptors such as "Nanoparticles," "Atheroma plaques," "Atherosclerosis," and "High-Density Lipoprotein." The main objective was to investigate the feasibility of treating atherosclerosis through nanotechnology. The analysis included the selection of articles published in the last ten years, prioritizing those that directly addressed the relationship between nanoparticles and atheroma plaques, while excluding non-peer-reviewed publications and those with inadequate methodologies. The results indicate that nanoparticles, especially functionalized ones, show promising potential for the treatment of atherosclerosis, with studies demonstrating efficacy and safety in experimental models. However, methodological variations among the studies limit direct comparisons of treatments, highlighting the need for further research to standardize approaches and evaluate long-term effects. This project contributes to the understanding of innovative interventions in the treatment of atherosclerosis, emphasizing the importance of nanotechnology as an emerging and effective therapeutic strategy, with significant implications for public health and the development of new treatment options.

Keywords: Nanoparticles; Atherosclerosis; Atheroma plaques.

1 INTRODUÇÃO

A aterosclerose, patologia inflamatória causada pelo acúmulo de placas de ateroma em artérias de médio a grosso calibre, lidera as causas de mortes no mundo, promovendo doenças como doença arterial coronariana (DAC) e acidente vascular encefálico (AVE)[1]. O grupo ao qual essa patologia pertence, é a maior causa de mortes no mundo, responsável por um terço das mortes somente no Brasil [2]. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), essas doenças são responsáveis por cerca de 17,9 milhões de mortes anualmente, representando 32% das mortes nível global [3]. O desenvolvimento da placa de ateroma apresenta uma causa multifatorial, que pode envolver fatores genéticos, diabetes, hipertensão, mas principalmente, estilo de vida, como tabagismo e sedentarismo, que podem ser agravantes para a causa dessa classe de doenças [4].

O papel do sistema imunológico está intrínseco ao surgimento das placas de ateroma. Ao passo que as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) se acumulam nas paredes arteriais, elas incitam a infiltração de células inflamatórias, como monócitos e células T. As células espumosas, características na formação das placas de ateroma, são resultantes da diferenciação de monócitos em macrófagos. Esse processo é mediado pela interação dos macrófagos com receptores Toll-like, que desencadeiam respostas pró-inflamatórias. A captura de partículas de LDL por esses macrófagos culmina na formação das células espumosas, um evento central no desenvolvimento das placas de ateroma.

Além disso, a morte desses macrófagos causa a formação de núcleos necróticos e lipídicos, e a proliferação de células musculares lisas que promovem o crescimento de lesões ateroscleróticas [5].

Estudos voltados ao desenvolvimento de intervenções farmacológicas para o tratamento desse grupo de doenças frequentemente revelam contraindicações, como efeitos colaterais de toxicidade, interações medicamentosas e comprometimento da resposta imunológica. Embora o uso desses medicamentos, majoritariamente anti-inflamatórios, possa ser benéfico na redução da formação de placas de ateroma, sua ação sistêmica pode gerar limitações no controle da resposta imunológica, levando ao risco de imunossupressão [6]. Com o intuito de direcionar a ação de tratamento e evitar efeitos colaterais sistêmicos, estuda-se a utilização de fármacos encapsulados em nanopartículas. Para atingir os macrófagos de forma específica e desempenhar múltiplas funções simultaneamente, as nanopartículas devem ser funcionalizadas com diferentes ligantes em sua superfície, como anticorpos monoclonais, peptídeos, oligômeros e pequenas moléculas. Esses ligantes podem se conectar a receptores (como receptores Toll-Like) na superfície dos macrófagos. Os efeitos das nanopartículas sobre os monócitos/macrófagos incluem desde a modulação da ativação na medula óssea, mobilização e recrutamento de monócitos, até o aumento da permeabilidade microvascular e modulação da polarização. Além disso, as nanopartículas podem explorar as características intrínsecas desses monócitos e macrófagos para aprimorar sua eficácia de direcionamento e evitar a eliminação pelo sistema imunológico. No tratamento da aterosclerose, a via intravenosa é preferencial para administração das nanopartículas, devido a sua distribuição sistêmica e rápida absorção. Após serem injetadas na corrente sanguínea, as nanopartículas sofrem um processo de adsorção de biomoléculas em sua superfície (como proteínas), resultando na formação da "corona proteica". Essa camada desempenha um papel fundamental na determinação do comportamento das nanopartículas, influenciando aspectos como a farmacocinética, biodistribuição e a capacidade de serem absorvidas pelas células-alvo. Dessa forma, as nanopartículas podem atuar diretamente nos macrófagos das lesões ateroscleróticas, modulando a resposta imune e promovendo um tratamento mais eficaz da doença. [7]

Visando a necessidade de formular soluções eficazes para a prevenção e tratamento da aterosclerose, esta revisão tem como intenção analisar as pesquisas mais atuais que descrevam os testes e desenvolvimentos de nanopartículas para o tratamento de placas de ateroma, dado seu impacto devastador na saúde pública e nos sistemas de saúde em todo o mundo.

2 METODOLOGIA

Para a elaboração desse estudo foi realizada uma revisão integrativa da literatura após reunir e analisar os materiais já publicados acerca desse tema.

A pesquisa foi conduzida entre março de 2024 a agosto de 2024. Com o objetivo de investigar o uso de nanopartículas para o tratamento de placas de ateroma. Foram utilizados bancos de dados públicos, empregando os descritores "Nanoparticles", "Atheroma plaques", "Atherosclerosis", “High-Density Lipoprotein” e "Clinical trial", vinculados aos termos MESH. Para complementar a revisão integrativa, também foram selecionadas manualmente referências de artigos relevantes. Com base nas pesquisas, elaborou-se a pergunta base do estudo: "É possível realizar o tratamento da aterosclerose a partir do uso da nanotecnologia?”.

Para garantir a relevância e atualidade dos dados analisados, foram selecionados artigos publicados nos últimos 10 anos, com ênfase especial nos últimos 5 anos.

Foram incluídos artigos que abordam as definições e desenvolvimento imunológico da placa de ateroma; a utilização de nanopartículas no tratamento de ateromas; estudos de casos sobre intervenções com nanopartículas em ateromas e estudos de casos da utilização de nanopartícula, para tratamento de aterosclerose.

Os critérios de exclusão foram artigos que não abordam diretamente a relação entre nanopartículas e placas de ateroma; publicações não revisadas por pares, como dissertações e relatos de experiências e artigos com metodologias inadequadas ou insuficientemente descritas.

Estes critérios garantiram a inclusão de pesquisas rigorosas e relevantes, focadas na utilização de nanopartículas como uma intervenção inovadora e promissora no tratamento de placas de ateroma, assegurando que as informações coletadas fossem de alta qualidade e aplicáveis ao campo de estudo.

A extração de dados foi realizada a partir de artigos e bancos de dados públicos, além da coleta de índices de doenças coronarianas obtidos de sites do Governo Brasileiro e da Organização Mundial da Saúde.

Neste presente estudo, foram reunidos os cinco principais estudos com ensaios *in vitro* e *in vivo* sobre o desenvolvimento de nanopartículas para tratamento de placas de ateroma.

3 DESENVOLVIMENTO

3.1 Mecanismos de desenvolvimento das placas de ateroma

A aterosclerose se desenvolve em quatro fases principais: a formação das placas, a calcificação, ruptura e regressão. As células endoteliais, responsáveis por revestir o interior dos vasos sanguíneos e separar o sangue da parede dos vasos, sofrem danos quando há uma elevada concentração de lipoproteína de baixa densidade (LDL). Esse fator interfere na produção da enzima óxido nítrico sintase (NOS), que é crucial para a síntese de óxido nítrico (NO). O NO atua na regulação da dilatação das artérias e na prevenção de processos inflamatórios. Quando há falha na produção de NO, o risco de inflamação aumenta, promovendo a adesão de monócitos às paredes das artérias[8].

Os macrófagos estão envolvidos em todas as fases do desenvolvimento das placas de ateroma. Primordialmente ocorre a diferenciação dos monócitos em macrófagos com dois fenótipos principais de macrófagos: M1 e M2, porém, existem outros subtipos que também são expressos de acordo com seu estímulo [7]. Os macrófagos M1 são conhecidos por seu papel pró-inflamatório, desempenhando uma função crucial na resposta imune inata e na produção de citocinas inflamatórias [8]. A polarização de macrófagos M1 ocorre após a indução de lipopolissacarídeos bacterianos (LPS), através da via de sinalização PI3K-AKT-mTOR-HIF1α (fator induzido por hipóxia 1 alfa), e essa polarização é ainda mais intensificada pela interferon-gama (IFN-γ). Através dessas ferramentas, eles apresentam um metabolismo predominantemente glicolítico e estão associados à progressão da aterosclerose. Em contraste, os macrófagos M2 são polarizados através da interleucina (IL) – 4 ou IL – 13 por meio das vias JAK-STAT, PPARs, AMPK e fator de transformação do crescimento – β (TGF – β) e estão envolvidos em atividades anti-inflamatórias, com um metabolismo voltado para a oxidação de ácidos graxos, e estão relacionados à redução da inflamação na aterosclerose [1].

Os macrófagos M2 também têm a capacidade de fagocitar LDL oxidada, formando células espumosas. Essas células tentam eliminar o excesso de LDL, mas frequentemente sofrem morte celular por apoptose, um processo de morte programada, ou por necrose, que resulta do dano celular. Ambos os processos levam à formação de um núcleo necrótico na placa aterosclerótica, composto por restos celulares e LDL. Esse núcleo necrótico aumenta o risco de ruptura da placa e, consequentemente, de lesões graves [1].

Além disso, as células musculares lisas (CMLs), nas placas de ateroma de característica avançada, geram uma inflamação vascular, perda de colágeno e matriz celular, que causa enrijecimento e calcificação das CMLs [9] .

Como decorrência de todas essas ações celulares, à medida que há esse acúmulo dentro da placa, a disponibilidade de nutrientes também diminui e a morte celular só aumenta, e devido à formação de neovascularização dentro da placa, ocorre uma hemorragia que recruta mais células inflamatórias como os macrófagos e causa uma grande desestabilização da placa, promovendo a ruptura [10]. Esse processo libera substâncias que promovem a coagulação sanguínea, o que pode resultar em oclusão arterial e, eventualmente, em um ataque cardíaco ou acidente vascular encefálico (AVE) [1].

3.2 Tratamento

3.2.1 Colchicina

A Colchicina tem sido utilizada no tratamento da aterosclerose devido à sua ação anti-inflamatória, embora seu uso a longo prazo apresente efeitos adversos. Ao inibir a resposta imunológica, pode causar deficiência imunológica e, em doses elevadas, levar a distúrbios gastrointestinais e até falência de órgãos. No entanto, estudos indicam que a colchicina reduz o risco de infarto do miocárdio ao suprimir atividades pró-inflamatórias presentes nas placas de ateroma [11].

3.2.2 Epigallocatechin gallate

Epigallocatechin gallate (EGCG) se caracteriza como o polifenol de maior presença em chá verde, um monômero de catequina isolado que apresenta atividades anti-inflamatórias, antioxidantes e antivirais. Na aterosclerose ela atua como bloqueadora dos marcadores inflamatórios, na inibição de espécies reativas de oxigênio (ROS) e na apoptose celular. Assim como sua atividade também inibe a polarização de macrófagos M1 e promove a polarização de M2 [12].

3.2.3 Nitric Oxide Synthase

O óxido nítrico sintase (NOS) é a enzima essencial para as atividades anti-inflamatórias das células endoteliais responsáveis por revestir as paredes dos vasos sanguíneos. Evitar a inibição da atividade dessa enzima significa que ela poderá continuar com as suas ações anti-inflamatórias, o que minimizará as possibilidades do acúmulo desses lipídios [13].

3.2.4 Ácido graxo docosahexaenóico

O ácido graxo ômega 3 docosahexaenóico (DHA) é um lipídio bioativo anti-inflamatório utilizado para reduzir a inflamação crônica e proteção contra doenças cardiovasculares, atuando na diferenciação dos macrófagos em macrófagos M1 e M2, ou seja, sua polarização. Em contrapartida, sua atuação também gera o aumento das citocinas pró-inflamatórias no plasma, causando inflamação no organismo [14].

3.2.5 Peptídeo Ac2-26 (anexina A1/lipocortina 1)

O peptídeo Ac2-26 é caracterizado como um peptídeo mimético de anexina A1/lipocortina 1, possui ação anti-inflamatória, atuando na inibição de leucócitos, na redução e emigração de neutrófilos, no desprendimento de neutrófilos do endotélio mesentérico ativado e exerce uma propriedade restauradora de tecidos, acelerando o reparo de feridas epiteliais após lesão. Devido a isso, demonstrou ser eficiente em várias doenças, incluindo lesão de isquemia-reperfusão miocárdica e aterosclerose [15].

3.3 Nanomateriais

3.3.1 VHPK-PLGA@COL

Foi utilizado o nanomaterial poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA), um copolímero biodegradável e biocompatível com longa meia-vida, em conjunto com o poli(etileno glicol) (PEG), que aumenta a biocompatibilidade e estabilidade do nanomaterial. A eficácia terapêutica foi potencializada pela adição do peptídeo VHPK, que tem afinidade específica pela VCAM-1, uma glicoproteína essencial na adesão de células endoteliais, promovendo maior direcionamento e eficácia no tratamento [11].

3.3.2 SE-LNPs

Neste estudo, foram desenvolvidas nanopartículas a partir de lipossomas compostos por lipídeos biliares. Essas nanopartículas possuem como característica uma absorção lenta, o que prolonga a circulação no organismo e retarda a absorção renal, aumentando o tempo de ação da droga. Além disso, os lipossomas reduzem a toxicidade das drogas e contêm receptores que mobilizam o colesterol direcionado para as placas de ateroma, facilitando sua excreção renal [12].

3.3.3 CeO2NPs

As nanopartículas de óxido de cério (CeO2) apresentam atividades enzimáticas que podem mimetizar a ação de diversas proteínas, dependendo das condições de temperatura e pressão. Isso confere ao cério grande potencial para múltiplas aplicações. Além das suas conhecidas propriedades antioxidantes, este estudo demonstrou que o CeO2 é capaz de prevenir a inibição da enzima óxido nítrico sintase (NOS), um fator chave na formação das placas de ateroma. A enzima NO exerce uma função anti-inflamatória, e sua inibição está diretamente associada ao desenvolvimento da aterosclerose [13].

3.3.4 MLNC-DHA-a1

Para esse artigo foram utilizadas nanocápsulas multiparedes de complexo metálico na superfície (anti PECAM-1) contendo óleo de algas como fonte de ácido docosahexaenóico (DHA) em seu núcleo (MLNC-DHA-a1). As nanocápsulas foram compostas de policaprolactona, monoestearato de sorbitano, acetato de zinco, quitosana de baixo peso molecular e polissorbato 80 [14].

3.3.5 Peptídeo Ac2-26

O estudo demonstrou a atividade de nanopartículas (NPs) biodegradáveis sub-100nm contendo o anti-inflamatório peptídeo Ac2-26, um peptídeo mimético de anexina A1/lipocortina 1. As NPs foram projetadas usando polímeros, especificamente poli(ácido láctico-co-glicólico)-b-polietilenoglicoldibloco biodegradável, PLGA (poli(ácido lático-co-glicólico)) e o peptídeo Col IV, responsável pela especificidade às áreas inflamatórias. Foi utilizada também uma forma embaralhada e incompatível do peptídeo Ac2-26, a Scrm Ac2-26, para avaliar a eficácia das nanopartículas que contêm o peptídeo ativo e a validar os resultados e a eficácia do tratamento [15].

3.4 Alvos de ação

3.4.1 VHPK-PLGA@COL

A colchicina demonstra a capacidade de inativar a família de receptores do tipo NOD, contendo o inflamassoma da proteína NLRP3, o que reduz a liberação de citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina-1β (IL-1β), a interleucina-18 (IL-18) e a proteína C reativa (PCR). Além disso, a colchicina exerce efeitos cardioprotetores ao modular o fator nuclear kappa B (NF-kB), um regulador chave da resposta inflamatória [11].

3.4.2 SE-LNPs

A *epigalocatequina galato* (EGCG) inibe a expressão de caveolina-1 e da enzima cicloxigenase-2 (COX-2), induzidas por ácidos graxos, o que contribui para a proteção e regulação das células endoteliais. Além disso, a EGCG impede a polarização de macrófagos M1, que estão associados a respostas inflamatórias, promovendo a polarização de macrófagos M2, conhecidos por suas funções anti-inflamatórias. Esse efeito é mediado pela inibição da sinalização do fator NF-kB e da glicólise, resultando na redução de marcadores pró-inflamatórios, espécies reativas de oxigênio (ROS) e apoptose celular [12].

3.4.3 CeO2NPs

O óxido de cério (CeO2) apresenta atividade semelhante à da enzima óxido nítrico sintase (NOS), catalisando a L-arginina (L-Arg) para promover a produção de óxido nítrico (NO). A CeO2 também eleva os níveis de NO em várias células e aumenta a produção de interleucina-4 (IL-4), uma citocina Th2 que ativa macrófagos M2, responsáveis por ações anti-inflamatórias e reparo tecidual [13].

3.4.4 MLNC-DHA-a1

O ácido graxo ômega 3 docosahexaenóico presente nas nanocápsulas pode ser rapidamente oxidado por enzimas como ciclooxigenase, 5-lipoxigenase e citocromo P450, resultando na produção de oxilipinas anti-inflamatórias e em Mediadores Pró-Resolução Especializados (SPMs), os quais auxiliam na transformação de macrófagos M1 em M2, promovendo a ação do processo anti-inflamatório. O principal objetivo das nanocápsulas é a modulação da resposta imune, especificamente na conversão dos macrófagos de um fenótipo pró-inflamatório (M1) para um fenótipo anti-inflamatório (M2). Esse processo ajuda a promover a resolução da inflamação e reduzir as placas de ateroma presentes no organismo. [14]

3.4.5 Peptídeo Ac2-26

O Peptídeo Ac2-26 possui propriedades anti-inflamatórias e pró-resolução, atua promovendo a resolução da inflamação. É liberado das nanopartículas através de um processo de difusão controlada, facilitado pela biodegradabilidade do material da nanopartícula e pelas condições do microambiente inflamatório. Atua impedindo a acumulação excessiva de células inflamatórias que podem causar danos aos tecidos, como os neutrófilos (PMNs), ajudando a restaurar a homeostase tecidual. Devido a sua

conjugação com o peptídeo colágeno IV (Col IV), as NPs são direcionadas as áreas específicas de inflamação e lesão vascular [15].

3.5 Ensaios *In Vitro*

3.5.1 VHPK-PLGA@COL

Foram realizados ensaios de citotoxicidade utilizando o kit Cell Counting Kit-8 (CCK-8) para a primeira avaliação das ações das nanopartículas. Como controle, foi utilizado apenas a colchicina para comparação dos efeitos nas culturas celulares. A análise revelou que as nanopartículas apresentaram um nível significativamente menor de toxicidade em comparação com a colchicina isolada [11].

Da mesma forma, a avaliação da compatibilidade hematológica foi essencial para determinar a segurança dos materiais utilizados. Os testes foram conduzidos em diferentes concentrações, e nenhum efeito hemolítico foi observado, confirmando a biocompatibilidade do material. Além disso, a habilidade das nanopartículas foi avaliada em células HUVECs (células endoteliais de veia umbilical humana), e os resultados demonstraram sua eficiência ao visar atividades inflamatórias das células, especialmente por meio da ligação ao peptídeo VHPK [11].

3.5.2 SE-LNPs

Os níveis de toxicidade foram avaliados em macrófagos RAW264.7, utilizando nanopartículas SE-LNPs e o composto EGCG isolado. Os resultados mostraram que o EGCG isolado apresenta um índice considerável de toxicidade, enquanto sua encapsulação em nanopartículas ajudou a reduzir essa toxicidade. Além disso, foi constatado que as nanopartículas eram mais propensas a se acumularem em macrófagos inflamatórios, atingindo assim o alvo desejado [12].

A produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) foi avaliada nas células tratadas com as nanopartículas, assim como nos grupos de controle. Nos controles, os níveis de ROS permaneceram presentes, refletindo o equilíbrio fisiológico celular normal. No entanto, após o período de pré-incubação com as SE-LNPs, observou-se uma redução significativa nesses níveis de oxidação. Além disso, as nanopartículas SE-LNPs promoveram um aumento na polarização de macrófagos M2, que têm funções anti-inflamatórias [12].

3.5.3 CeO2NPs

Dois tipos de linhagens celulares foram testados para avaliar os níveis de toxicidade das nanopartículas, sendo a HUVEC e a RAW 264.7, e ambas apresentaram resultados que indicam segurança. Foi comprovado que a atividade das nanopartículas pode controlar os níveis de óxido nítrico (NO), ampliando as ações anti-inflamatórias por meio da catálise da L-arginina (L-Arg). Além de evitar a inibição da enzima NO, as nanopartículas também demonstraram capacidade de regular o fenótipo dos macrófagos, incluindo a supressão da polarização dos macrófagos M1, que são pró-inflamatórios [13].

3.5.4 MLNC-DHA-a1

As nanocápsulas MLNC-DHA-a1 foram projetadas para serem absorvidas por macrófagos. Os testes utilizaram macrófagos RAW 264.7 em diferentes concentrações para avaliar sua capacidade de modulação da resposta inflamatória e citotoxicidade, por meio da citometria de fluxo. Na segunda etapa, ocorreu a aplicação de células BMDM para avaliar a polarização dos macrófagos. Além disso, as nanocápsulas foram funcionalizadas com anti-PECAM-1, uma glicoproteína transmembrânica utilizada para auxiliar no direcionamento das nanocápsulas para os macrófagos [14].

Os resultados apontaram que todas as nanocápsulas foram internalizadas como um padrão molecular associado a danos (DAMPs) pelos macrófagos RAW 264.7, levando a uma redução nos níveis de TNF-α, uma citocina pró-inflamatória, e um aumento no fenótipo M2 nas células BMDM, sugerindo que o DHA liberado estaria promovendo uma grande resposta anti-inflamatória [14].

3.5.5 Peptídeo Ac2-26

Os focos do estudo *in vitro* eram no desenvolvimento e na avaliação das NPs contendo Ac2-26, juntamente com a avaliação da cinética de liberação do peptídeo, analisando o tempo de liberação do peptídeo e sua eficácia em modular a resposta inflamatória [15].

O estudo de cinética foi realizado com a incubação das nanopartículas em Eppendorfs a 37 °C, e a cada intervalo de tempo definido (8h, 24h, 48h, 72h e 96 h) as NPs foram removidas, filtradas, centrifugadas e ressuspendidas em PBS, depois incubadas e o processo repetido novamente. Os materiais adquiridos foram analisados no espectrômetro UV-Vis nanodrop e a absorbância medida a 220mn. Os valores adquiridos possibilitaram a determinação da quantidade de peptídeo liberado em cada ponto de tempo [15].

3.6 Resultados *In Vivo*

3.6.1 VHPK-PLGA@COL

Camundongos ApoE−/− foram utilizados em um estudo randomizado e cego, divididos em cinco grupos: normal, controle, VHPK-PLGA, Colchicina e VHPK-PLGA@COL. Os camundongos normais (G1) foram alimentados com uma dieta padrão durante todo o experimento, enquanto os demais grupos receberam uma dieta enriquecida em colesterol por dez semanas, visando estabelecer o modelo de aterosclerose. Após esse período, os agentes terapêuticos específicos foram administrados por via intravenosa a cada dois dias, durante oito semanas [11].

Os resultados mostraram que o tratamento com VHPK-PLGA@COL foi eficaz na redução das placas ateroscleróticas, destacando-se entre os demais grupos. Isso ocorreu devido à capacidade do peptídeo VHPK de se ligar à proteína VCAM-1, expressa em células endoteliais inflamadas, permitindo uma ação mais direcionada e eficiente no tratamento das placas [11].

3.6.2 SE-LNPs

Camundongos ApoE−/− foram alimentados com uma dieta calórica e divididos aleatoriamente em quatro grupos: grupo com dieta rica em gordura, SIM, LPNs e SE-LNPs. Cada um desses grupos seguiu a dieta por oito semanas. Os tratamentos foram administrados via injeção intravenosa duas vezes por semana, durante três semanas. Após o período de alimentação, foi detectada a formação de grandes placas de ateroma, e os resultados indicaram que o tratamento com as nanopartículas SE-LNPs apresentou melhor eficácia em comparação aos outros grupos [12].

Além disso, o tratamento com SE-LNPs resultou na diminuição significativa da quantidade de lipídios nos animais, além de demonstrar uma boa recuperação do tecido afetado pela aterosclerose [12].

3.6.3 CeO2NPs

Camundongos ApoE−/− com 12 semanas de idade foram submetidos a uma dieta rica em colesterol para promover a formação de placas de ateroma. Durante esse período, doses de nanopartículas de CeO2 (CeO2NPs) foram administradas por via intraperitoneal. Após oito semanas de tratamento, observou-se uma leve redução no tamanho das placas, juntamente com alterações nos volumes sistólico e diastólico, sugerindo a possibilidade

de reposicionamento e eliminação das placas [13].

Outra análise revelou uma redução significativa na densidade das placas, além de um aumento no volume de lipídeos dispersos, indicando uma menor deposição lipídica, o que pode reduzir a formação de novas placas ateroscleróticas [13].

3.6.4 MLNC-DHA-a1

Os camundongos homozigotos LDLr(-/-) machos de três meses foram mantidos sob uma dieta ocidental *ad libitum* por 24 semanas e divididos em cinco grupos: BASELINE, controle (n=11), DHA-D (n=9), LNC-MCT (n=15) e MLNC-DHA-a1 (n=15). O uso da dieta ocidental em camundongos LDL(-/-) é utilizado para induzir inflamação e promover alteração do perfil lipídico. No estudo, resultou no aumento da concentração de TC, LDL, HDL, TG, ALT, IL-1ÿ no plasma e TNFÿ no homogeneizado do fígado [14].

Logo após, o grupo BASELINE foi eutanasiado e os outros receberam dieta regular AIN-93M por 8 semanas, visando a nutrição dos animais. Durante essas últimas 8 semanas, o grupo CONT não recebeu suplementação; o grupo DHA-D foi suplementado com óleo de algas por gavagem; o grupo MLNC-DHA-a1 recebeu nanocápsulas multicamadas de complexo metálico funcionalizadas na superfície (anti-PECAM-1) contendo óleo de algas e o grupo LNC-MCT recebeu nanocápsulas de núcleo lipídico contendo triglicerídeos de cadeia média (MCT), injetadas por via intravenosa, pela veia caudal uma vez por semana. Em seguida, os camundongos foram anestesiados e eutanasiados, e amostras de sangue foram coletadas [14].

Os resultados indicaram que as nanocápsulas multiparedes de complexo metálico funcionalizadas com anti-PECAM-1 e contendo DHA foram bem toleradas por camundongos LDL(-/-). Todos os grupos apresentaram ingestão alimentar e ganho de peso semelhantes, sem sinais de inflamação local após injeções na veia caudal. Análises do perfil de ácidos graxos, peso relativo e concentração de citocinas sugeriram que as nanocápsulas não se acumularam no fígado, evitando reações inflamatórias. No entanto, as nanocápsulas MLNC-DHA-a1 provocaram uma alteração no perfil de citocinas no plasma, com aumento na liberação de IL-6 e IL-1β, as quais podem ser a razão da resposta inflamatória. Apesar da boa tolerância *in vivo*, essa resposta imune com a elevação da concentração de citocinas pode representar uma limitação para ensaios clínicos [14].

3.6.5 Peptídeo Ac2-26

3.6.5.1 Peritonite murina in vivo

Camundongos fêmeas C57BL/6J (6-8 semanas de idade) foram utilizados para o estudo, os quais receberam uma injeção intraperitoneal (IP) de Zimosan A para induzir a inflamação do peritônio, chamada de peritonite murina. Com a indução da peritonite, os camundongos foram expostos a diferentes formulações intravenosas (IV): veículo, NPs vazios, NPs contendo Ac2-26, NPs contendo um peptídeo embaralhado (Scrm Ac2-26 NP) ou peptídeo nativo Ac2-26. Exsudatos peritoneais foram coletados em diferentes intervalos de tempo (4h, 12h e 24h após o início do tratamento) para quantificar a infiltração de polimorfonucleares (PMNs) usando exclusão de azul de tripan e citometria de fluxo. A eficácia do tratamento foi avaliada pela contagem de PMNs, indicadores da resposta inflamatória. As NPs Ac2-26 demonstraram uma redução significativa na infiltração de PMNs em comparação com o tratamento com o peptídeo Ac2-26 livre [15].

3.6.5.2 Lesão por reperfusão de isquemia de membro posterior

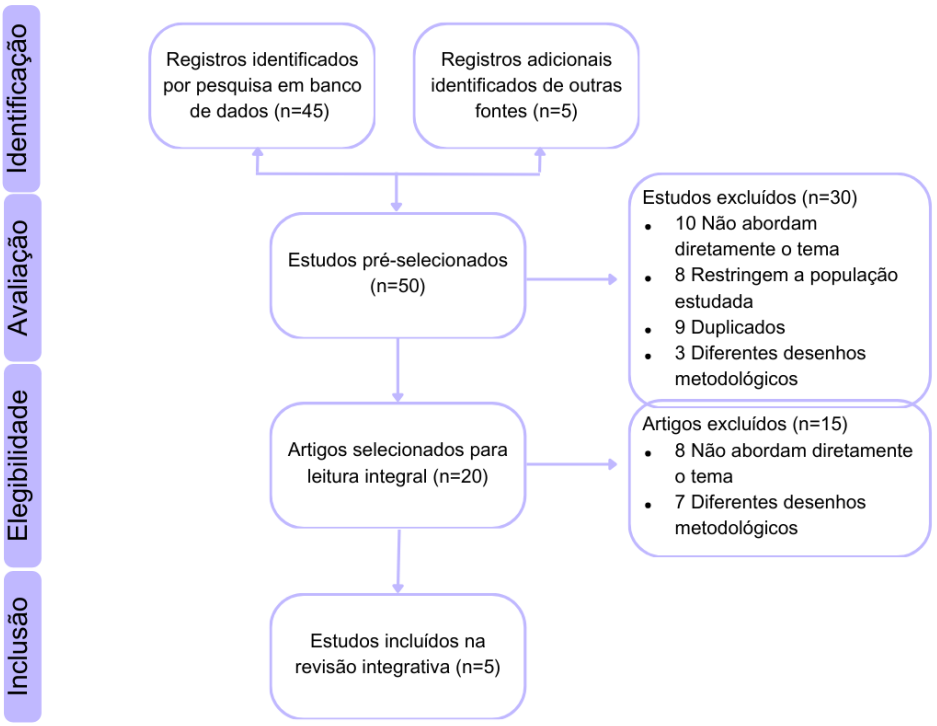
Os camundongos foram submetidos à isquemia de membro posterior usando torniquetes por 1 hora, em seguida, foram removidos para iniciar a reperfusão. Durante a reperfusão, os camundongos receberam injeções intravenosas (IV) de NPs Ac2-26 direcionados a Col-IV, NPs Ac2-26, NPs Scrm Ac2-26 direcionados a Col-IV e apenas veículo. Após uma hora de reperfusão, os camundongos foram eutanasiados com uma overdose de anestésico. O músculo gastrocnêmio foi removido, colocado em tampão de lise frio e homogeneizado. Os níveis de mieloperoxidase (MPO) nos sobrenadantes obtidos foram medidos utilizando ensaio ELISA [15].

As NPs Ac2-26 direcionadas a Col-IV mostraram eficácia em limitar a infiltração de PMNs no tecido lesionado após a isquemia-reperfusão, indicando que a formulação direcionada melhorou a resposta terapêutica [15].

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após uma busca completa em bases de dados de artigos que contemplassem o tema escolhido para a revisão, houve a pré-seleção de cinquenta documentos, dos quais quarenta e cinco foram excluídos por não abordarem diretamente o tema, restringirem a população estudada, entre outros. Com isso, foram selecionados e incluídos cinco principais artigos que abordassem diretamente os tópicos: nanopartículas, aterosclerose e placas de ateroma. (Figura 1).

Figura 1 – Fluxograma PRISMA com a descrição da metodologia aplicada nas escolhas dos artigos utilizados para esta revisão.



Fonte: Elaboração própria

De acordo com a análise dos artigos revisados, pode-se notar que existem algumas diferenças na aplicação das metodologias e desenvolvimentos dos projetos, causando a diferenciação de seus resultados, conforme demonstrado logo abaixo, na tabela 1.

Tabela 1. Comparativo dos dados dos artigos selecionados e analisados para a revisão integrativa.

Fármaco	Nanomateriais	Células do ensaio in vitro	Espécie de ratos do ensaio in vivo	Via de aplicação dos agentes terapêuticos
Colchicina	VHPK-PLGA@COL - (nanomaterial poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) + peptídeo VHPK)	Células HUVECs (células endoteliais de veia umbilical humana)	Camundongos ApoE−/−	Via intravenosa
Epigallocatechin gallate (EGCG)	SE-LNPs - lipossomas compostos por lipídeos biliares	Macrófagos RAW264.7	Camundongos ApoE−/−	Via intravenosa
Óxido nítrico sintase (NOS)	CeO2NPs - óxido de cério (CeO2)	Células HUVEC e macrófagos RAW 264.7	Camundongos ApoE−/− de três meses	Via intraperitoneal
Ácido graxo ômega 3 docosahexaenoico (DHA)	MLNC-DHA-a1 - nanocápsulas multiparedes de complexo metálico na superfície (anti PECAM-1) contendo óleo de algas como fonte de ácido docosahexaenoico (DHA) em seu núcleo (MLNC-DHA-a1)	Macrófagos RAW 264.7 e células BMDM	Camundongos homozigotos LDLr(-/-) machos de três meses	Via intravenosa
Peptídeo Ac2-26 (anexina A1/lipocortina 1)	Peptídeo Ac2-26 - peptídeo Ac2-26 + PLGA (poli(ácido lático-co-glicólico)) + peptídeo Col IV	Não há	Camundongos fêmeas C57BL/6J (6-8 semanas de idade)	Via intravenosa

Fonte: Elaboração Própria

Conforme demonstrado na tabela, as metodologias adotadas proporcionaram avanços significativos nas linhas de pesquisa analisadas nesta revisão, com resultados promissores no tratamento de placas de ateroma em estudos *in vivo*. Observa-se que há semelhanças entre os tratamentos que envolvem a Colchicina, o EGCG e o NOS. No entanto, os estudos que empregaram o DHA e o peptídeo Ac2-26 apresentaram uma escolha distinta de espécies animais e células utilizadas nos ensaios *in vitro*.

Enquanto as células endoteliais HUVECs e os macrófagos (RAW264.7 e BMDM) foram amplamente aplicados por seu papel relevante na aterosclerose, os ensaios *in vivo* concentraram-se em camundongos geneticamente modificados, como ApoE−/− e LDLr(-/-), que desenvolvem lesões ateroscleróticas, o que os torna ideais para o estudo dessa patologia. Além disso, a via de administração dos agentes terapêuticos foi predominantemente intravenosa, permitindo uma distribuição sistêmica eficiente, com exceção do NOS, que foi administrado por via intraperitoneal, possivelmente para obter um efeito mais localizado e uma melhor absorção.

Os diferentes fármacos abordados atuam em diversos aspectos da aterosclerose: A Colchicina e o EGCG possuem efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes; o NOS atua na regulação dos processos inflamatórios; o DHA influencia o metabolismo lipídico; e o peptídeo Ac2-26 promove a resolução inflamatória, contribuindo para a estabilização das placas ateroscleróticas. Embora existam vários candidatos promissores para o desenvolvimento de um tratamento eficaz contra a aterosclerose, a comparação direta entre os tratamentos ainda é limitada devido a diferenças metodológicas importantes, como o tempo de intervenção e a escolha das espécies de animais. Essas variações dificultam uma avaliação uniforme dos efeitos dos tratamentos. Ainda assim, as evidências indicam que estamos próximos de desenvolver um tratamento eficaz para uma das principais classes de doenças responsáveis pela maioria das mortes no mundo.

REFERÊNCIAS

1.Xiao Z, Li Y, Xiong L, Liao J, Gao Y, Luo Y, et al. Recent Advances in Anti-Atherosclerosis and Potential Therapeutic Targets for Nanomaterial-Derived Drug Formulations. Vol. 10, Advanced Science. John Wiley and Sons Inc; 2023.

2.Lopes Dias J, De R, Freitas F, Picone Borges de Aragão I. Análise epidemiológica de infarto agudo do miocárdio e outras doenças isquêmicas do coração no Brasil nos últimos 10 anos. Revista de Saúde. 2022 Mar 16;13(1):73–7.

3.ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. *Cardiovascular diseases (CVDs)*. 2021. Disponível em: https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds). Acesso em: 21 out. 2024.

4.Marinho LL, Rached FH, Morikawa AT, Tavoni TM, Cardoso APT, Torres RVA, et al. Safety and possible anti-inflammatory effect of paclitaxel associated with LDL-like nanoparticles (LDE) in patients with chronic coronary artery disease: a double-blind, placebo-controlled pilot study. Front Cardiovasc Med. 2024;11.

5.Cavalcante MF, Kazuma SM, Bender EA, Adorne MD, Ullian M, Veras MM, et al. A nanoformulation containing a scFv reactive to electronegative LDL inhibits atherosclerosis in LDL receptor knockout mice. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2016 Oct 1;107:120–9.

6.Nidorf SM, Fiolet ATL, Mosterd A, Eikelboom JW, Schut A, Opstal TSJ, et al. Colchicine in Patients with Chronic Coronary Disease. New England Journal of Medicine. 2020 Nov 5;383(19):1838–47.

7.Chen W, Schilperoort M, Cao Y, Shi J, Tabas I, Tao W. Macrophage-targeted nanomedicine for the diagnosis and treatment of atherosclerosis. Vol. 19, Nature Reviews Cardiology. Nature Research; 2022. p. 228–49.

8.Sell M, Lopes AR, Escudeiro M, Esteves B, Monteiro AR, Trindade T, et al. Application of Nanoparticles in Cancer Treatment: A Concise Review. Vol. 13, Nanomaterials. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2023.

9.Xu X, Xu XD, Ma MQ, Liang Y, Cai YB, Zhu ZX, et al. The mechanisms of ferroptosis and its role in atherosclerosis. Vol. 171, Biomedicine and Pharmacotherapy. Elsevier Masson s.r.l.; 2024.

10.De Meyer GRY, Zurek M, Puylaert P, Martinet W. Programmed death of macrophages in atherosclerosis: mechanisms and therapeutic targets. Vol. 21, Nature Reviews Cardiology. Nature Research; 2024. p. 312–25.

11.Tang J, Li T, Xiong X, Yang Q, Su Z, Zheng M, et al. Colchicine delivered by a novel nanoparticle platform alleviates atherosclerosis by targeted inhibition of NF-κB/NLRP3 pathways in inflammatory endothelial cells. J Nanobiotechnology. 2023 Dec 1;21(1).

12.Wan J, Yang J, Lei W, Xiao Z, Zhou P, Zheng S, et al. Anti-Oxidative, Anti-Apoptotic, and M2 Polarized DSPC Liposome Nanoparticles for Selective Treatment of Atherosclerosis. Int J Nanomedicine. 2023;18:579–94.

13.Sun Y, Xu T, Qian Y, Chen Q, Xiong F, Du W, et al. NOS-like activity of CeO2 nanozymes contributes to diminishing the vascular plaques. J Nanobiotechnology. 2024 Dec 1;22(1).

14.de Castro Leão M, di Piazza I, Caria SJ, Broering MF, Farsky SHP, Uchiyama MK, et al. Effect of nanocapsules containing docosahexaenoic acid in mice with chronic inflammation. Biomedicine and Pharmacotherapy. 2023 Nov 1;167.

15.Kamaly N, Fredman G, Subramanian M, Gadde S, Pesic A, Cheung L, et al. Development and in vivo efficacy of targeted polymeric inflammation- resolving nanoparticles. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013 Apr 16;110(16):6506–11.