

Capítulo 3

Biotecnologia e Descoberta de Novos Fármacos

Valdelena Alessandra da Silva

Introdução

De acordo com a Convenção sobre Diversidade Biológica da ONU, em 1992, a Biotecnologia é definida como uma aplicação tecnológica qualquer que use sistemas biológicos, organismos vivos ou derivados destes, para fazer ou modificar produtos ou processos para usos específicos. É um termo que inclui processos utilizados desde o século passado na fermentação e em descobertas mais recentes como a engenharia genética (LUBINIECKI, 1997; WALSH, 2000).

A Biotecnologia Farmacêutica é iniciada pela produção de compostos biossintéticos de baixo peso molecular, como por exemplo, a descoberta da penicilina no século XX por Alexander Fleming. São produzidos medicamentos originados a partir de processos biotecnológicos (Biofármacos), onde o princípio ativo é obtido de microorganismos ou células modificadas geneticamente, como proteínas terapêuticas, hemoderivados, soros e vacinas (imunológicos), antibióticos e alérgenos (STRYJEWSKA et al., 2013; BARLOW et al., 1995).

Atualmente, a Biotecnologia Farmacêutica está avançada, redesenhando os processos e pesquisa, desenvolvimento, produção e comercialização de medicamentos (STRYJEWSKA et al., 2013). Isso se deve a novas descobertas científicas e de instrumentos, como a genômica, proteômica, metabolômica e citômica, que permitem pesquisar o comportamento de moléculas e proteínas. Assim como, permitem observar uma variedade de aplicações por meio do monitoramento de indicadores celulares ou bioquímicos, desde as etapas de identificação de alterações fisiológicas e/ou metabólicas induzidas pelo estado de doença até a avaliação dos efeitos dos fármacos sobre o organismo humano (GUIDO et al., 2010).

A proteômica que por espectroscopia de massa, eletroforese em gel, *chips* de proteínas e arranjos de anticorpos, sequenciam aminoácidos e suas modificações pós-traducionais. Assim, dados são gerados em média-escala com relevantes indicações para a descoberta de novos alvos. Porém, como limitação, tem baixa eficiência de dados com ruído associado. Enquanto a metabolômica, utilizam as moléculas que constituem os metabólitos permitindo uma triagem em alta escala com significativa capacidade de

transferência para estudos, possuindo também limitações devido as misturas complexas, ruído associado e reprodutibilidade. Já a citômica, utilizam os fótons alcançados de imagem digital, fluorescência e imuno-histoquímica, para otimizar a visualização temporal e espacial dos efeitos celulares dos fármacos, porém ainda encontra dificuldade em obter biomarcadores relevantes (GUIDO et al., 2010).

No início da década de 70 foi descoberta a tecnologia do DNA Recombinante, que compreende a engenharia genética, proteica e metabólica, que permite a transferência de material genético entre organismos vivos e a produção de uma extensa sequência de peptídeos, proteínas, e bioquímicos de células naturalmente não produtoras. Foi a tecnologia do DNA recombinante, também conhecida como engenharia genética, que até hoje é a base de muitos processos biotecnológicos. Foi a tecnologia do DNA Recombinante que permitiu a produção dos primeiros produtos biotecnológicos na indústria farmacêutica (STRYJEWSKA et al., 2013; COMBETTES-SOUVERAIN, 1998). A tecnologia do DNA Recombinante utiliza a técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), descoberta em 1985 por Kary B. Mullis, que possibilita a amplificação do DNA *in vitro* (COMBETTES-SOUVERAIN, 1998).

Em geral, as diferentes estratégias biotecnológicas discutidas produzem grandes quantidades de dados que devem ser analisados de forma rápida e eficaz. As análises *in silico* têm um papel fundamental, possibilitando a organização, o gerenciamento, a visualização e a interpretação da informação gerada. A bioinformática estabelece padrões de correlação entre os diversos eventos bioquímicos e celulares envolvidos no estado de doença, ou durante o tratamento de um candidato a fármaco. Bem como, a análise exploratória *in silico* de sequências genômicas de regiões CRISPR (GUIDO et al., 2010).

A tecnologia CRISPR que permite a manipulação de genes e vias em células de mamíferos, fornecendo ferramentas poderosas estudos de identificação e validação de alvos. São tecnologias de edição de genoma que oferecem ferramentas para estabelecer sistemas celulares para estudar o efeito de um polimorfismo de um nucleotídeo simples específico em uma doença relevante fenótipo. Os resultados desses estudos genéticos reversos e avançados forneceriam evidência sobre se o sistema celular pode recapitular parte da doença fenótipo, por isso a relevância biológica para uso como modelo celular para a doença (LU et al., 2017).

Os processos biotecnológicos mais utilizados amplamente na indústria farmacêutica, além da tecnologia de DNA recombinante, e incluindo dentro deste mutagênese dirigida, são biossensores, tecnologia de anticorpos monoclonais, tecnologia

de vacinas, *human-on-chip*, impressão de órgãos, medicina de precisão, antibióticos, hemocomponentes e lipossomas, farmacogenética e farmacogenômica, e mais recente, a terapia gênica. As principais ferramentas utilizadas são PCR, Enzimas de restrição, Eletroforese, Eletroporação e Sistema X-gal/lacZ (STRYJEWSKA et al., 2013).

Atualmente, a biotecnologia tem impacto na indústria farmacêutica, contribuindo com a produção de novos fármacos, em adição às tecnologias tradicionais, fornecendo medicamentos com maior especificidade e menos efeitos adversos.

Principais inovações da Biotecnologia na produção de novos fármacos

Biossensores. São dispositivos médicos implantados utilizados na medicina de precisão. A medicina de precisão trata o indivíduo com as suas particularidades, individualizando o tratamento, prevenção e investigação, considerando a variabilidade individual do paciente (GHASEMI et al., 2016). Compreende como dispositivos analíticos contendo um sensor biológico que transforma a resposta biológica em sinais elétricos, compostos por bioreconhecimento (identifica o alvo) e um transdutor (converte o sinal de reconhecimento molecular em sinal elétrico). Podem ser utilizados diferentes elementos de reconhecimento molecular, como, anticorpos, proteínas, enzimas, peptídeos e ácidos nucleicos (THÉVENOT et al., 2001). São utilizados para diagnósticos, gestão, monitorização e tratamentos de diversas doenças. Alguns requisitos são importantes para os biossensores: capacidade de ação dentro da faixa terapêutica de uma substância ativa na presença de soluções como sangue ou fluido intersticial, portanto, deve ter sensibilidade e especificidade; biocompatibilidade e bioestabilidade, ser funcional diante de reações imunológicas negativas; ter autossuficiência e transmissão, no fornecimento de energia e controle externo (GRAY et al., 2018).

Estes dispositivos são aplicados nas doenças metabólicas, como por exemplo na diabetes *mellitus*, (Home, 2012). Biossensores também são utilizados nas investigações forenses. Alguns biossensores de enzimas também estão em fase experimental na neurociência com o objetivo de investigação de distúrbios regulatórios no metabolismo energético cerebral para a cognição e memória (HERTZ; GIBBS, 2009).

Anticorpos monoclonais terapêuticos. Anticorpos monoclonais terapêuticos são produtos biofarmacêuticos à base de imunoglobulinas modificadas, que exercem um efeito específico e controlado sobre um determinado alvo. Originam-se de um único clone de células do linfócito B selecionado artificialmente, característica que os torna monoespecíficos e homogêneos. Desta forma, este anticorpo liga somente a um epítipo,

apresentando diferenciação da especificidade deste epítopo para cada anticorpo. Características que explicam o seu potencial diante de anticorpos policlonais produzidos *in vivo*, que embora tenham alta afinidade pelo alvo imunizante, integram uma mistura de anticorpos neutralizantes e não neutralizantes com diferentes afinidades (LEVENE et al., 2005).

Anticorpos monoclonais terapêuticos são produzidos à partir de imunização de animais, seguido da seleção das células B candidatas pela colheita de células do baço do animal. O sistema imunológico do animal gera e otimiza essas células candidatas, por meio da técnica do hibridoma por Kohler e Milstein em 1975 (KOHLENER et al., 1976). A técnica do hibridoma é caracterizada pela fusão de células linfócitos-mieloma, gerando clones imortais de células B que podem ser rastreados com base na afinidade de ligação de seu produto, permitindo a seleção de anticorpos monoclonais específicos e de alta afinidade (BREEDVELD, 2000). Tipos de anticorpos monoclonais: Muromonab-CD3 (100% camundongo), o primeiro a ser descoberto, de origem murina. Caracterizados por reações alérgicas comuns em humanos e meia-vida curta (WEINER, 2006); Quiméricos (35% camundongo/65% humano). Caracterizados por meia-vida estendida e imunogenicidade reduzida em humanos; Humanizado (5% camundongo/95% humano), anticorpos monoclonais humanizado por clonagem de genes de região variável (V) e enxerto de região determinante de complementaridade de cadeia variável (CDR); e humano (100% humano), produzidos por imunização de modelos de camundongos transgênicos que expressam isotipos humanos de IgG. São mais bem tolerados e melhor tempo de meia-vida (YAMASHITA et al., 2007). Para a produção de anticorpos monoclonais Humano também podem ser utilizadas bibliotecas *in vitro* (*phage display*), que fazem uma triagem combinatória, permitindo a seleção de anticorpos de afinidade moderadamente alta e totalmente humanos (ZHAO et al., 2016).

Os anticorpos monoclonais representam atualmente uma das maiores classes de biofármacos e são utilizados em terapias de doenças oncológicas, inflamatórias, cardiovasculares, transplante de órgãos, doenças respiratórias e oftalmológicas e vem expandindo para outras doenças (LEVENE *et al.*, 2005). O interesse pelos anticorpos monoclonais também se manifesta em doenças neurodegenerativas, tal como Alzheimer, que possui representantes em estudo clínico, tendo como alvo proteínas beta-amiloides. Na farmacologia, os anticorpos monoclonais comparados com terapias tradicionais, possuem diferenças: peso molecular maior (aproximadamente 150 kDA), o que limita a sua utilidade terapêutica a alvos extracelulares, não atravessando a barreira

hematoencefálica. Seu acesso ao cérebro é garantido por meio de injetáveis, o que pode ser benéfico quando quiser evitar exposição do sistema nervoso central (COOPER et al., 2013).

Na farmacodinâmica, a afinidade e a seletividade muito altas dos anticorpos monoclonais terapêuticos para seu alvo molecular os tornam menos propensos a ter efeitos fora do alvo (OVACIK; LIN, 2018). Os principais métodos para obter anticorpos monoclonais biespecíficos são fusão somática de duas linhas de hibridoma; conjugação química com reticuladores; e engenharia genética (SEDYKH et al., 2018).

Na farmacocinética, a biodisponibilidade oral de anticorpos monoclonais é de menos de 1%, devido ao seu tamanho, baixa estabilidade gastrointestinal, permeabilidade limitada da membrana e polaridade, por esse motivo a administração é via parenteral (intravenosa, subcutânea e intramuscular). Quando são injetados subcutânea e intramuscular, o processo de absorção do local da injeção é através do espaço intersticial e no sistema linfático, com posterior drenagem para a circulação sistêmica (RYMAN; MEIBOHM, 2017; KEIZER et al., 2010). Outras vias potenciais de administração incluem intravítrea, intraperitoneal e pulmonar (KEIZER et al., 2010).

Human-on-a-chip. A tecnologia *Human-on-a-chip* (HoaC) é uma plataforma que pode ser utilizada para o teste de novos fármacos, reproduzindo a complexidade dos órgãos em um mesmo *chip* e computadores controlam a circulação de um fluido que relativamente realiza as funções do sangue. Especificamente, HoaC são sistemas micro fisiológicos, onde inúmeros órgãos são incluídos em uma plataforma. Essa plataforma desenvolve modelos fenotípicos específicos de pacientes com doenças raras, onde as células específicas da doença podem ser diferenciadas das células-tronco pluripotentes induzidas. Esses avanços técnicos permitem as iniciativas de sistemas microfisiológicos para o programa de testes de eficácia e toxicidade de medicamentos pelo *National Institutes of Health* (NIH) e *Defense Advanced Research Projects Agency* (DARPA) em 2012 e incentivaram o amadurecimento e a comercialização dessa tecnologia. HoaC substitui o uso de experimentos em animais, diminui o custo da pesquisa e a limitação de baixa população de estudo nos ensaios e contribui para a produção de novos fármacos (LOW; TAGLE, 2017).

Farmacogenética e farmacogenômica. A farmacogenética estuda as influências dos efeitos de genes isolados sobre as respostas aos fármacos. Esta área da farmacologia clínica, visa otimizar o tratamento por meio da personalização terapêutica, uma vez que

a resposta farmacológica a um tratamento medicamentoso não é a mesma em todos os indivíduos (BURMESTER et al., 2010). Particularmente, procura identificar genes que predisponham às doenças, afetem a farmacodinâmica e farmacocinética de medicamentos, modulem respostas aos medicamentos, estejam associados às reações adversas ao medicamento (SHASTRY, 2006).

No sentido mais amplo, a farmacogenética integra a farmacogenômica, que estuda o genoma humano em sua totalidade e avalia os determinantes poligênicos da resposta aos fármacos, e a farmacogenética é utilizada para definir genes que determinam a ação de um fármaco. Embora os termos sejam utilizados de forma intercambiável, a farmacogenética é frequentemente considerada o estudo da resposta à fármacos em relação ao genoma (MORGANTI et al., 2019).

Os ensaios de reação da cadeia de polimerase em tempo real (PCR-RT), sequenciadores de última geração, genotipagem, são concentrados na detecção de variações genéticas que modificam as interações de fármacos com os alvos ou as vias metabólicas dos fármacos (anabólicas ou catabólicas ou *upstream* e *downstream*, respectivamente), podendo ser utilizados para a seleção de formulações de fármacos e percepção de diversas imunogenicidades, inclusive, biomarcadores na farmacogenética para facilitar a terapia medicamentosa mais eficaz, para reações adversas a fármacos e respostas a intervenções terapêuticas (MORGANTI et al., 2019; COCCA et al., 2016; BECQUEMONT et al., 2010).

Polimorfismos genéticos que codificam proteínas alvos de fármacos, e em enzimas metabolizadoras e transportadores de fármacos podem alterar a eficácia dos mesmos, eventos adversos ou ambos para causar respostas variáveis em pacientes (MA, 2011).

Portanto, a variabilidade genética pode desempenhar papel importante na farmacocinética, ou seja, na absorção, distribuição, metabolismo e excreção, assim como na farmacodinâmica, isto é, na interação do fármaco com o alvo e na relação entre a sua concentração e seu efeito (WEINSHILBOUM, 2006).

Compreender o transcriptoma levando em consideração a variabilidade genética individual aplicada na medicina de precisão. O transcriptoma é o conjunto completo de RNA ou transcrito de um organismo, grupo de células ou ainda de uma célula específica em uma determinada condição fisiológica e abrange o sequenciamento de todos os tipos de moléculas de RNA, como miRNA, mRNA, RNA codificantes e não codificantes, assim como as formas de *splicing* alternativos poliadenilados. Reunidos na análise eles refletem os genes que estão ativamente expressos em um tecido particular (DELANEY et

al., 2016).

O processo de transcrição ocorre mediante a síntese de RNA a partir do DNA. O RNA determina quais genes serão expressos e podem se modificar durante a vida do organismo, ao contrário do DNA, que é estático. Uma das principais causas de modificações são as alterações ambientais, considerando que o organismo tenta se ajustar a estas mudanças para se manter vivo. O transcriptoma tem como objetivo catalogar todas as espécies de transcritos, determinar as estruturas das transcrições de genes padrões de *splicing*, distintas modificações pós transcricionais e quantificar as 36 alterações dos níveis de cada expressão de transcritos sob diferentes condições (DELANEY et al., 2016).

A eficácia terapêutica de um fármaco depende do conhecimento da patogênese da doença e da especificidade temporal e espacial necessária da expressão gênica. Um nova era da terapia gênica é marcada pela tecnologia em que a entrega é aprimorada por convecção guiada por ressonância magnética intervencionista, que é o padrão-ouro para verificar a entrega precisa do vetor em tempo real (SUDHAKAR; RICHARDSON, 2019).

Terapia gênica. A terapia gênica fornece benefícios terapêuticos por diversos meios, pela correção dos mecanismos patogênicos, corrigir genes defeituosos com a introdução de genes saudáveis, controle dos sintomas. Com o aumento da compreensão da medicina molecular são desenvolvidos vetores de transferência de genes mais específicos e eficientes que produzem resultados clínicos. Também, abrange o uso de biomarcadores, que em sua maioria são marcadores moleculares para detectar traços genéticos específicos e orientar diferentes abordagens na prevenção e no tratamento de várias doenças (MORGANTI et al., 2019).

Impressão tridimensional. São modelos de órgãos bioartificiais que replicam a anatomia específica do paciente e têm desempenhado papéis importantes no diagnóstico médico e no tratamento de doenças. São produzidos em impressão tridimensional 3D. Podem ser utilizados em transplante de órgãos, evitando problemas relacionados à imunossupressão. A impressão tridimensional 3D integra a medicina, biotecnologia, biologia, física e engenharia mecânica, onde utilizam impressoras 3D e polímeros sintéticos no suporte nas atividades celulares e biomoleculares que dão suporte às atividades celulares biomoleculares. Os polímeros sintéticos biodegradáveis utilizados na produção de órgãos bioartificiais possuem excelentes propriedades mecânicas, estruturas químicas ajustáveis, taxas de degradação controláveis e material atóxico (Fan e Xiaohong, 2020). As tecnologias de impressão 3D são auxiliadas por *Computer Aided Design* (CAD), produzindo estruturas complexas diretamente do projeto, com alta resolução e

sofisticação, construindo objetos sólidos por deposição incremental de material e fusão de finas camadas transversais. Também podem ser construídos utilizando hidrogéis ou soluções poliméricas carregadas de células (WANG et al., 2007; RICCI et al., 2012; WANG et al., 2010; ZHAO et al., 2016; WANG et al., 2013).

Os principais tipos de tecnologias 3D mais utilizadas para construção dos andaimes porosos são que utilizam polímeros sintéticos como materiais de partida; modelagem de deposição fundida; impressão baseada em extrusão; estereolitografia; impressão baseada em jato de tinta; e impressão 3D assistida por laser (WANG et al., 2018). Os polímeros sintéticos mais utilizados são poli (ácido lático); poli (ácido glicólico); ácido polilático-co-glicólico; poliuretano; e policaprolactona (HUNG et al., 2016; ESHRAGHI et al., 2010; MOTT et al., 2015; SUN et al., 2008; KRUTH et al., 2008; IFKOVITS et al., 2007; LIGON et al., 2017).

Nanopartículas. Nanopartículas são utilizadas para entrega de fármacos de uso terapêutico e diagnósticos. Lipossomas são utilizados para aumentar a precisão do diagnóstico, aumentar a eficácia terapêutica e reduzir eventos adversos (VAN DER MEEL et al., 2019, IRVINE; DANE, 2020; JAIN; STYLIANOPOULOS, 2010). Lipossomas são utilizados para alcançar esses benefícios no tratamento oncológico (Doxil), enquanto outras nanopartículas lipídicas portadoras de RNA mensageiro são potencialmente utilizadas para a produção de vacinas (COHEN, 2020; ROSENBLUM et al., 2018; LAM et al., 2018). Além disso, são utilizadas para a entrega de fármacos, genes e nanocarreadores para agentes de contraste de imagem e fármacos não opioides para tratar a dor crônica (RAMIREZ-GARCIA et al., 2019; ESSER et al., 2016; TRUONG et al., 2013).

A metodologia aplicada a liposomas e nanopartículas poliméricas é caracterizada pela marcação com fluorescência e sangue humano. Sendo injetados em uma rede microvascular sintética com uma geometria complexa de microcanais projetados para imitar os vasos sanguíneos. O sangue humano contendo nanopartículas é posteriormente coletado e incubado com uma mistura de anticorpos marcados com fluorescência criteriosamente selecionados. Cada anticorpo se liga a um tipo específico de célula no sangue, permitindo a identificação de interações celulares por citometria de fluxo (MAI et al., 2020).

Para a produção de nanopartículas é necessário fazer a síntese e a caracterização de nanopartículas; estabelecer o método de caracterização do fluxo sanguíneo; análise de

interações celulares; verificar o efeito das condições de fluxo; efeito do tamanho da partícula; e o efeito da carga de partículas (MAI *et al.*, 2020).

Referências

BARLOW, B. A. et al. **Biotechnology**. In: HEYWOOD, V. H.; WATSON, R. T. (orgs). Global biodiversity assessment. Cambridge: Cambridge University Press, 1995, p.671-710.

BECQUEMONT, L.; ALFIREVIC A., et al. Practical recommendations for pharmacogenomics-based prescription: 2010 ESF-UB Conference on Pharmacogenetics and Pharmacogenomics. **Pharmacogenomics**, v.12, n.1, Jan, p.113-24. 2011.

BREEDVELD, F. C. Therapeutic monoclonal antibodies. **Lancet**, v. 355, p. 735-740, 2000.

BURMESTER, J. K.; SEDOVA, M.; SHAPERO, M. H.; MANSFIELD, E. DMET microarray technology for pharmacogenomics-based personalized medicine. **Methods Mol Biol.**, v. 632, p. 99–124, 2010.

COCCA, M. et al. Pharmacogenetics driving personalized medicine: analysis of genetic polymorphisms related to breast cancer medications in Italian isolated populations. **J Transl Med**, v. 14, p. 22, 2016.

COHEN, J. **Science**, v. 368, p. 14, 2020.

COMBETTES-SOUVERAIN, M.; ISSAD, T. Molecular basis of insulin action. **Diabet Metab**, v. 24, p. 477–489, 1998.

COOPER, P. R.; CIAMBRONE, G. J.; KLIWINSKI, C. M. et al. Efflux of monoclonal antibodies from rat brain by neonatal Fc receptor, FcRn. **Brain Res.**, v. 1534, p. 13-21, 2013.

THÉVENOT D. R.; TOTH, K.; DURST, R. A; WILSON, G. S. Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification. **International Union of Pure and Applied Chemistry: Physical Chemistry Division Commission I.7 (Biophysical Chemistry); Analytical Chemistry Division, Commission V.5 (Electroanalytical Chemistry) Biosensors and Bioelectronics**, v.16, p. 121-131, 2001.

DELANEY, S. K. et al. Toward clinical genomics in everyday medicine: perspectives and recommendations. **Expert Rev Mol Diagn**, v. 16, n. 5, p. 521-32, 2016.

ESSER, L.; TRUONG, N. P.; KARAGOZ, B.; MOFFAT, B. A.; BOYER, C.; QUINN, J. F.; WHITTAKER, M. R.; DAVIS, T. P. **Polym. Chem.** v. 7, p. 7325, 2016.

ESHLAGHI, S.; DAS, S. Mechanical and microstructural properties of polycaprolactone scaffolds with one-dimensional, two-dimensional, and three-dimensional orthogonally oriented porous architectures produced by selective laser sintering. **Acta Biomater.**, v. 6, p. 2467–2476, 2010.

FAN, L.; XIAOHONG, W. Synthetic Polymers for Organ 3D Printing. **Polymers (Basel)**, v. 12, n. 8, p. 1765, 2020.

GHASEMI, M.; NABIPOUR, I.; OMRANI, A.; ALIPOUR, Z.; ASSADI, M. Precision medicine and molecular imaging: new targeted approaches toward cancer therapeutic and diagnosis. **American Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, v. 6, p. 310-327, 2016.

GUIDO, R. V. C.; ANDRICOPULO, A. D.; OLIVA, G. Planejamento de medicamentos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. **Estud. av.**, v. 24, n. 70, p. 81-98, 2010.

HERTZ, L.; GIBBS, M. E. What learning in day-old chickens can teach a neurochemist: focus on astrocyte metabolism. **Journal of Neurochemistry**, v. 109, p. 10-16, 2009.

HOME, P. D. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of rapid-acting insulin analogues and their clinical consequences. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 14 p. 780-788, 2012.

HUNG, B. P.; NAVED, B. A.; NYBERG, E. L.; DIAS, M.; HOLMES, C. A.; ELISSEFF, J. H.; DORAFSHAR, A. H.; GRAYSON, W. L. Three-dimensional printing of bone extracellular matrix for craniofacial regeneration. **ACS Biomater. Sci. Eng.** v. 2, p. 1806–1816, 2016.

IFKOVITS, J. L.; BURDICK, J. A. Review: Photopolymerizable and degradable. **Tissue Eng.**, v. 13, p. 2369–2385, 2007.

IRVINE D. J.; DANE, E. L. **Nat. Rev. Immunol.** v. 20, p. 321, 2020.

JAIN, R. K.; STYLIANOPOULOS, T. **Nat. Rev. Clin. Oncol.**, v. 7, p. 653, 2010.

KEIZER, R. J.; HUITEMA, A. D.; SCHELLENS, J. H.; BEIJNEN, J. H. Clinical pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies. **Clin Pharmacokinet.**, v. 49, p. 493-507, 2010

KOHLER G, MILSTEIN C. Derivation of specific antibody-producing tissue culture and tumor lines by cell fusion. **Eur J Immunol.**, v. 6, p. 511-519, 1976.

KRUTH, J.-P.; MERCELIS, P.; VAERENBERGH, J.; VAN FROYEN, L. ROMBOUTS M. Binding mechanisms in selective laser sintering and selective laser melting. **Rapid Prototyp. J.**, v. 11, p. 26–36, 2013.

LAM, F. C.; MORTON, S. W.; WYCKOFF, J.; HAN, T. L. V.; HWANG, M. K.; MAFFA, A.; BALKANSKA-SINCLAIR, E.; YAFFE, M. B.; FLOYD, S. R.; HAMMOND, P. T. **Nat. Commun.**, v. 9, p. 1991, 2018.

LEVENE, A. P.; SINGH, G.; PALMIERI, C. Therapeutic monoclonal antibodies in oncology. **J R Soc Med.**, v. 98, p. 146-152, 2005.

LIGON, S.C.; LISKA, R.; STAMPFL, J.; GURR, M.; MÜLHAUPT, R. Polymers for 3D printing and customized additive manufacturing. **Chem. Rev.**, v. 117, p. 10212–10290, 2017.

LOW, L. A.; TAGLE, D. A. Microphysiological systems (“organs-on-chips”) for drug efficacy and toxicity testing. **Clin. Transl. Sci.**, v. 10, p. 237–239, 2017.

LU, Q.; LIVI, G. P.; MODHA, S.; YUSA, K.; MACARRÓN, R.; DOW, D. J. Applications of CRISPR genome editing technology in drug target identification and validation. **Expert Opinion on Drug Discovery**, v. 12, p. 6, p. 541–552, 2017.

LUBINIECKI, A. Potencial influence of international harmonization of pharmaceutical regulation on biopharmaceutical development. **Curr Opin Biotechnol**, v. 8, p. 350–356, 1997.

M.Grayab; J.Meehanbc; C.Wardab; S.P.Langdonb; I.H.Kunklerb; A.Murrayd; D.Argylea: Implantable biosensors and their contribution to the future of precision medicine. Elsevier, 2018, 21-29.

MA, Q.; LU, A. Y. Pharmacogenetics, pharmacogenomics, and individualized medicine. **Pharmacol Rev**, v. 63, n. 2, p.437-5, 2011.

MAI, N. V.; HANNAH, G. K.; WHEATLEY A. K.; PENG S.; PILKINGTON E. H.; VELDHUIS, N. A.; DAVIS T. P.; KENT, S. J.; TRUONG, N. P. Cellular Interactions of Liposomes and PISA Nanoparticles during Human Blood Flow in a Microvascular Network. **Wilwey**, v. 16, n. 33, p. e2002861, 2020.

MOTT, E.J; BUSSO, M.; LUO, X.; DOLDER, C.; WANG, M. O.; FISHER, J. P.; DEAN D. Digital micromirror device (DMD)-based 3D printing of poly (propylene fumarate) scaffolds. **Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.**, v. 61, p. 301–311, 2016.

OVACIK, M.; LIN, K. Tutorial on monoclonal antibody pharmacokinetics and its considerations in early development. **Clin Transl Sci.**, v. 11, p. 540-552, 2018.

RAMIREZ-GARCIA, P. D.; RETAMAL, J. S.; SHENOY, P. et al. **Nat. Nanotechnol.**, v. 14, p. 1150, 2019.

RICCI J.L., CLARK E.A., MURRIKY A., SMAY J.E. Three-dimensional printing of bone repair and replacement materials: Impact on craniofacial surgery. **J. Craniofacial Surg.**, v. 23, p. 304–308, 2012.

ROSENBLUM, D.; JOSHI, N.; TAO, W.; KARP, J. M.; PEER, D. **Nat. Commun.**, v. 9, p. 1410, 2018.

RYMAN, J. T.; MEIBOHM, B. Pharmacokinetics of monoclonal antibodies. **CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol.**, v. 6, p. 576-588, 2017.

SEDYKH, S. E.; PRINZ, V. V.; BUNEVA, V. N.; NEVINSKY, G. A. Bispecific antibodies: design, therapy, perspectives. **Drug Des Devel Ther.**, v. 12, p.195-208, 2018.

SHASTRY, B. S. Pharmacogenetics and the concept of individualized medicine. **Pharmacogenomics J**, v. 6, n. 1, p. 16-21, 2006.

STEFANIA, M.; PAOLO, T.; EMANUELA, F; PAOLO, D.; DUSO, B. A.; CURIGLIANO, G. **Affiliations expandNext Generation Sequencing (NGS): A Revolutionary Technology in Pharmacogenomics and Personalized Medicine in Cancer**. Springer, 2019.

SUDHAKAR, V.; RICHARDSON, R. M. Gene Therapy for Neurodegenerative Diseases. **Neurotherapeutics**, v. 16, n. 1, p. 166–175, 2019.

SUN, Q.; RIZVI, G. M.; BELLEHUMEUR, C. T.; GU, P. Effect of processing conditions on the bonding quality of FDM polymer filaments. **Rapid Prototyp. J.**, v. 15, p. 72–80, 2008.

TRUONG, N. P.; GU, W. Y.; PRASADAM, I.; JIA, Z. F.; CRAWFORD, R.; XIAO, Y.; MONTEIRO, M. J.; **Nat. Commun.**, v. 4, p. 1902., 2013.

VAN DER MEEL, R.; SULHEIM, E.; SHI, Y.; KIESSLING, F.; MULDER, W. J. M.; LAMMERS ,T. **Nat. Nanotechnol.**, v. 14, p. 1007, 2019.

ZHAO, X.; LIU, L.; WANG, J.; XU, Y.F.; ZHANG, W. M.; KHANG, G.; WANG, X. In vitro vascularization of a combined system based on a 3D bioprinting technique. **J. Tissue Eng. Regen. Med.**, v.10, p. 833–842, 2016.

ZHAO, A.; TOHIDKIA, M. R.; SIEGEL, D. L.; COUKOS, G; OMIDI, Y. Phage antibody display libraries: a powerful antibody discovery platform for immunotherapy. **Crit Rev Biotechnol.**, v. 36, p. 276-289, 2016.

YAMASHITA, M.; KATAKURA, Y.; SHIRAHATA, S. Recent advances in the generation of human monoclonal antibody. **Cytotechnology**, v. 55, p. 55-60, 2007.

WALSH, G. Biopharmaceutical benchmarks. **Nature Biotechnol**, v. 18, p. 831–833, 2000.

WANG, X.; YAN, Y.; ZHANG, R. Rapid prototyping as tool for manufacturing bioartificial livers. **Trends Biotechnol.**, v. 25, p. 505–513, 2007.

WANG, X.; YAN, Y.; ZHANG, R. **Gelatin-based hydrogels for controlled cell assembly**. In: Ottenbrite R. M., editor. *Biomedical Applications of Hydrogels Handbook*. Springer: New York, USA. p. 269–284, 2010.

WANG, X.; YAN, Y.; ZHANG, R. Recent trends and challenges in complex organ manufacturing. **Tissue Eng. Part B.**, v. 16, p. 189–197, 2010.

WANG X., LIU C. 3D bioprinting of adipose-derived stem cells for organ manufacturing. In: Khang G., editor. *Enabling Cutting Edge Technology for Regenerative Medicine*. Springer, SBM Singapore Pte Ltd. pp. 3–14, 2018.

WEINER, L. M. Fully human therapeutic monoclonal antibodies. **J Immunother.**, v. 29, p. 1-9, 2006.

WEINSHILBOUM, R. M.; WANG, L. Pharmacogenetics and pharmacogenomics: development, science, and translation. **Annu Rev Genomics Hum Genet**, v.7, p.223-45. 2006.